

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

L. VAILLARD

(1850-1935)

Le médecin-inspecteur général L. Vaillard, vice-président du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur, membre du Conseil de Direction de ces *Annales* depuis 1897, a succombé le 5 février 1935.

Né le 3 octobre 1850 à Montauban, L. Vaillard, dont la mère était originaire d'Arbois, ville natale de Pasteur, fit ses études secondaires au lycée de Tarbes, où il eut pour condisciple le futur maréchal Foch.

Admis à l'École de santé de Strasbourg, il subit, en 1870, le siège de cette ville. Après son stage au Val-de-Grâce, il est affecté à Bordeaux et poursuit avec A. Pitres une série de travaux de grand intérêt sur les névrites périphériques non traumatiques. Il participe ensuite à la campagne de Tunisie.

Nommé après concours, agrégé au Val-de-Grâce en 1883, il se passionne pour les découvertes de Pasteur, fréquente le laboratoire de la rue d'Ulm et s'y lie avec Chamberland, et surtout avec Roux, d'une affection qui ne se démentira jamais. Plus tard, il devint l'ami de Metchnikoff et s'inspira de ses doctrines. En 1888, il crée au Val-de-Grâce le premier labora-

toire de bactériologie pour les besoins de l'armée et, bientôt, il y enseigne cette science à laquelle Pasteur et ses collaborateurs avaient déjà donné tant d'éclat.

C'est alors qu'il entreprit ses belles recherches microbiologiques et expérimentales sur le tétanos : elles devaient résoudre le difficile problème pathogénique de cette redoutable maladie et, à juste titre, sont devenues classiques. Avec M. Vincent (1891), puis avec M. Rouget (1892), il démontre que le bacille de Nicolaïer reste strictement localisé au point où il a été inoculé et que toutes ses propriétés pathogènes relèvent des effets de sa toxine diffusible sur les centres nerveux : les bacilles jeunes, séparés de leur milieu de culture avant qu'ils aient eu le temps d'y élaborer leurs poisons, ne donnent pas le tétanos aux animaux les plus sensibles et sont rapidement détruits par les phagocytes. Les spores même, à la condition qu'elles aient été au préalable débarrassées de toute trace de toxine, se montrent également inoffensives ; mais il suffit d'ajouter à ces germes, lavés ou chauffés, une petite quantité d'acide lactique ou de culture de *M. prodigiosus*, ou encore de contusionner la région injectée pour favoriser leur végétation dans l'organisme à l'abri des atteintes des leucocytes, et pour déclencher en quelques jours une intoxication tétanique mortelle. Ce sont des circonstances analogues qui interviennent dans l'éclosion du tétanos naturel.

Les travaux que L. Vaillard effectua ensuite avec E. Roux (1893) sur la préparation et les propriétés de l'antitoxine tétanique, sur la prévention et le traitement du tétanos par le sérum des animaux hyperimmunisés, ont fourni la preuve que la sérothérapie antitétanique, si elle est sans valeur quand les effets de la toxine se sont déjà manifestés, se montre, au contraire, d'une efficacité certaine lorsque l'injection est faite pendant ou, mieux, au début de la période d'incubation. Les résultats sont d'autant plus favorables que l'injection préventive suit de plus près la contamination et que les foyers tétaniques sont mis à l'abri des germes d'infections secondaires. Sous l'impulsion de Nocard, l'application de cette règle a fait disparaître en peu de temps le tétanos opératoire chez les animaux. Durant la grande guerre, l'absence presque complète de cette complication mortelle chez nos soldats a consacré la

valeur prophylactique de la méthode de Roux et Vaillard.

En 1893, L. Vaillard fut désigné pour occuper, au Val-de-Grâce, la chaire d'épidémiologie en remplacement de Kelsch. Aux théories empiriques en cours, il oppose les conceptions étiologiques et pathogéniques nouvelles, fondées sur les notions de virulence et de toxicité des germes microbiens, de contagiosité et d'immunité, c'est-à-dire sur la doctrine même de Pasteur. En application de son enseignement, il insiste sur l'importance prophylactique des analyses d'eau et poursuit l'étude expérimentale et épidémiologique des maladies infectieuses : démonstration (avec Kelsch) de la nature tuberculeuse de la pleurésie dite *a frigore*, enquêtes sur l'origine hydrique de la fièvre typhoïde, à Cherbourg notamment, recherches (avec M. Vincent) sur les fièvres typhoïdes sans lésions intestinales, sur la résistance des bactéries dans le sol et sur le rôle propagateur des porteurs de germes typhiques. Enfin en 1903, avec M. Dopter, entré depuis quelques années dans sa famille, il s'attache à l'étude clinique et anatomo-pathologique de la dysenterie bacillaire, précise les caractères du bacille de Shiga et ses réactions sérologiques, met en évidence le rôle de la toxine dans la genèse des symptômes et des lésions dysentériques, reproduit la maladie chez les animaux de laboratoire au moyen de cultures pures ou de toxine et prépare un sérum préventif et curatif, qui reste le meilleur remède de la dysenterie.

L. Vaillard avait été élu membre de l'Académie de Médecine en 1904. Il y fut toujours un conseiller écouté, grâce à un bon sens impeccable, servi par une parole éloquente et persuasive. Il était aussi membre du Conseil supérieur d'hygiène de la Seine où il publia, en 1913, un rapport très documenté sur les mesures à prendre pour la destruction des mouches.

Médecin inspecteur général au début de la guerre, nul n'était plus averti pour veiller à l'hygiène de nos troupes, ni plus susceptible d'adapter cette hygiène aux conditions de la guerre stabilisée dans les tranchées. Il obtint, entre autres, la création de laboratoires d'armée qui ont rendu tant de services pour le dépistage rapide de tous les débuts d'épidémie. Il multiplia les inspections sanitaires et fit appel à la compétence de pastoriens : Roux, Laveran, Widal. Il eut rendu encore d'autres services

si la limite d'âge ne lui avait pas été appliquée au cours des hostilités.

Depuis et jusqu'à ses derniers jours, en dépit de son grand âge et de sa santé déclinante, il ne cessa jamais de participer à la vie de notre Maison. Il était, avec M. Roux, le seul survivant de la période héroïque de la Bactériologie. Lorsque, en octobre 1933, la santé de notre vénéré directeur déclina, Vaillard écourta son séjour à la campagne ; chaque jour, il apportait à son ami le réconfort de sa chaude affection et il fut le confident de ses ultimes pensées. On n'a pas oublié avec quelle émotion il salua à l'Académie de Médecine la mémoire de M. Roux.

Après la mort de Calmette et de Roux, au moment où nos esprits, partagés entre la douleur d'avoir perdu ces Maîtres et l'ardente résolution de continuer leur tâche, avaient besoin de confiance en l'avenir, L. Vaillard fut l'un des défenseurs les plus résolus de notre patrimoine intellectuel, l'un de ceux qui surent sauvegarder notre indépendance et stimuler nos volontés. Il n'eut plus alors qu'un désir : assurer l'avenir de la Maison de Pasteur. Ensuite, a-t-il dit à plusieurs reprises, je n'aurai plus qu'à disparaître pour rejoindre Roux : Il m'appelle, répétait-il ces derniers temps.

Si, dans la réserve et la parfaite dignité de sa vie, il ne recherchait pas les éloges et tenait pour vains la pompe des cérémonies et l'encens des discours, il est cependant un hommage, l'un des rares sans doute, qu'il eût agréé, celui que nous lui offrons ici, l'hommage de vénération et de gratitude de l'Institut Pasteur.

A PROPOS DE L'IMMUNISATION LOCALE CONTRE LA TOXINE DIPHTÉRIQUE

par A. BESREDKA.

Les conclusions qui se dégagent du récent Mémoire de MM. Ramon et Djourichitch (1) étant en contradiction avec les nôtres (2), nous avons cherché à nous rendre compte des causes possibles d'un tel désaccord. La lecture des protocoles d'expériences n'a pas tardé à nous montrer que ces savants ont opéré dans des conditions très différentes des nôtres.

Rappelons les deux faits qui ressortent de nos expériences :

I. La peau du lapin fraîchement rasée se comporte à l'égard de la toxine diphtérique autrement que la peau du lapin rasée depuis deux à quinze jours.

II. Le lapin dont la peau a été soumise à des applications répétées de la toxine, acquiert une immunité locale, laquelle fait rapidement place à une immunité générale.

I

Pour ce qui est de la première proposition, voici la technique que nous avons adoptée. Nous rasons la peau du flanc *d'un côté seulement*, le côté droit, par exemple, sans produire la moindre égratignure, et nous ne touchons point à la peau du côté opposé, celle du côté gauche. Au bout d'un délai qui varie, suivant les expériences, de deux à quinze jours, nous rasons, dans les mêmes conditions, la peau du flanc gauche, restée jusque là intacte et, séance tenante, nous frictionnons les deux côtés avec de la crème toxique.

Que se passe-t-il ensuite ?

Une réaction cutanée vive, caractéristique, apparaît du côté

(1) Ces *Annales*, 54, janvier 1935, p. 5.

(2) Ces *Annales*, 46, mai 1931, p. 542.

du flanc fraîchement rasé ; par contre, le flanc rasé depuis quelques jours ne réagit pas ou prou.

Or, MM. R. et D., voulant répéter cette expérience, procèdent de la façon suivante : ils rasent la peau *des deux côtés* d'emblée. Naturellement, dans la suite de leurs opérations, ils leur est impossible d'observer une différence entre les deux côtés. Ces expérimentateurs n'auraient pas pu se mettre dans des conditions plus opposées aux nôtres.

Quant à l'explication du phénomène, nous avons déclaré d'une façon explicite ceci : « Nous nous bornons à exposer les faits tels que nous les avons observés, sans chercher à en pénétrer le mécanisme ». La première idée qui vient à l'esprit est que la peau fraîchement rasée, bien que ne portant aucun signe visible de traumatisme, a son immunité naturelle amoindrie et que, dans les jours qui suivent, cette immunité revient à son état normal ; de là résulterait la différence des réactions entre les deux côtés. Mais alors, comment expliquer que la résistance de la peau antérieurement rasée ne persiste que pendant une quinzaine de jours seulement et, d'autre part, comment expliquer les faits observés au sujet des muqueuses, sur lesquels nous allons revenir et où l'intervention du rasoir est inutile ?

Mais, quelle que soit l'interprétation à laquelle on s'arrête, il y en a une que nous répudions sans hésitation : c'est précisément celle que nous prêtent MM. R. et D., d'après laquelle l'action de la toxine diphtérique se confondrait avec celle des antiviruses. Or, le terme d'antivirus ne fut pas mentionné dans notre Mémoire, pas plus qu'il ne le fut, d'ailleurs, dans celui paru l'année suivante où nous eûmes soin de souligner, une fois de plus, que « l'immunité locale due au feu du rasoir est une immunité *sui generis*, et que c'est, pour le moment, la seule précision que nous pouvons apporter relativement à la nature de cette immunité non spécifique (1). »

Notons, pour caractériser le phénomène en question, qu'il ne peut être reproduit (expériences inédites) ni avec le virus vaccinal, ni avec le staphylocoque virulent dont l'affinité pour la peau est bien connue.

(1) Ces *Annales*, 48, avril 1932, p. 433.

II

En préparant la peau du lapin du côté droit, par exemple, avec des doses croissantes de toxine, puis en soumettant, peu de temps après, la peau des deux côtés simultanément à la friction avec une dose déterminée de toxine, nous avons observé le phénomène suivant : le côté préparé, c'est-à-dire le côté droit, réagissait à peine à cette friction, tandis que la peau du côté opposé, demeurée jusque-là intacte, manifestait une vive réaction. Nous en conclûmes à l'existence de l'immunité locale antidiphthérique, tout en ajoutant que « cette immunité locale devient rapidement générale ».

MM. R. et D. répétèrent nos expériences sans pouvoir constater que l'immunité générale fût précédée de l'immunité locale, et ils en conclurent à la non-existence de l'immunité locale antidiphthérique.

Qu'il nous soit permis, avant de chercher la cause de ce désaccord, de nous reporter à trente-cinq ans en arrière pour rappeler les expériences de Römer (1) qui ont plus d'un point commun avec les nôtres : nous visons les recherches sur l'abrine qui firent sensation à l'époque. Bien avant Römer, on savait, en médecine, qu'après un premier badigeonnage de l'œil avec de la macération de jéquirity (dont l'abrine est le principe actif), cet œil cessait de réagir à une nouvelle application de cette substance; pendant ce temps, l'œil du côté opposé continuait à réagir tout comme chez un sujet neuf. Ce phénomène, bien connu des ophtalmologistes, avait été diversement interprété jusqu'au jour où Römer porta le problème sur le terrain expérimental. Dans une série d'expériences qui sont un modèle du genre, ce savant a montré que l'abrine, appliquée sur la conjonctive du lapin, crée l'immunité générale, mais que celle-ci est toujours précédée, pendant les quinze ou vingt premiers jours, d'une *immunité strictement locale* (2).

Il a vu que cette immunité locale est facile à mettre en évi-

(1) *Gräfe's Archiv. f. Ophthal.*, 52, 1900, p. 72.

(2) Notons, en passant, que cette immunité locale, produite par une véritable toxine donnant aisément naissance à l'antitoxine, ne saurait être confondue avec l'immunité locale produite par les antiviruses, lesquels ne sont ni toxiques, ni capables de donner naissance à des anticorps thérapeutiques.

dence, aussi bien chez le lapin que chez l'homme, à la condition que l'on procède par doses faibles et progressivement croissantes, en évitant des altérations profondes des cellules.

C'est la même observation que nous avons faite au cours de nos expériences sur la toxine diphtérique. « Une des conditions essentielles du succès de l'immunisation, avons-nous écrit, fut l'emploi, surtout au commencement, des crèmes pauvres en toxine; dès qu'on dépassait certaines concentrations de toxine, on perdait le bénéfice des opérations antérieures... » En d'autres termes, pour peu qu'on employât des doses trop fortes, l'immunisation devenait impossible.

Or, quand on examine de près les protocoles d'expériences de MM. R. et D., on constate que, au lieu de procéder par doses progressivement croissantes de toxine, ils passaient des doses initiales faibles ($1/25$ de centimètre cube de toxine) *sans transition* à des doses cinquante fois supérieures (2 cent. cubes de toxine). Il n'est donc pas surprenant qu'ils n'aient pas pu observer le stade de l'immunité locale cutanée. Nous sommes tentés de croire que c'est pour la même raison que MM. Ramon et Richou n'ont pas pu constater (1) le stade de l'immunité locale oculaire pour l'abrine.

III

Revenons à notre première expérience concernant la résistance inaccoutumée à la toxine qu'accuse la peau antérieurement rasée; elle a été complétée, sur notre demande, par notre collaborateur Urbain (2). Cet auteur a opéré sur la muqueuse vaginale de différents animaux: jument, vache, brebis, chèvre et chienne. Au moyen d'une spatule, il frictionnait une des lèvres du vagin et laissait l'autre lèvre intacte. Après un délai de quatre jours, il soumettait les muqueuses des deux lèvres à une friction simultanée au moyen de la crème diphtérique.

Voici ce que cette expérience a montré: l'application de la toxine sur la muqueuse intacte donnait lieu, chez tous les animaux, à des érosions plus ou moins étendues, avec croû-

(1) *C. R. Soc. Biol.*, **117**, 1934, p. 1058.

(2) *C. R. Soc. Biol.*, **115**, 1934, p. 486.

telles blanchâtres ou noirâtres et gouttelettes de sérosité; par contre, aucune réaction n'a pu être constatée chez ces mêmes animaux, au niveau des lèvres antérieurement frictionnées; celles-ci demeurèrent complètement indemnes.

Ici on ne saurait invoquer, comme dans le cas de la peau rasée, le retour de la muqueuse à l'immunité naturelle, puisque c'est précisément la muqueuse intacte, en puissance de son immunité naturelle, qui se montre moins résistante à la toxine que la muqueuse préparée.

Nous devons donc admettre qu'un traumatisme, si léger soit-il, qu'il s'agisse de la peau antérieurement rasée ou d'une muqueuse antérieurement frictionnée, a pour effet de renforcer l'immunité naturelle. Est-ce parce que la couche superficielle de la peau ou de la muqueuse se trouve épaissie à la suite du traumatisme et devient de ce fait moins perméable vis-à-vis de la toxine? Est-ce parce que les terminaisons nerveuses étant lésées, les cellules deviennent moins réceptives? Nous ne saurions le dire, mais ce qui est certain, c'est que l'on assiste à un accroissement de l'immunité naturelle locale. Aussi est-il permis de se demander si, en temps d'épidémie de diphtérie, il ne serait pas indiqué de frictionner la gorge des enfants bien portants pour renforcer leur immunité naturelle, sans préjudice du traitement couramment employé. Des essais dans cet ordre d'idées sont en cours.

REMARQUES
A PROPOS DE L'ACTION TOXIQUE ET IMMUNISANTE
DE LA TOXINE DIPHTÉRIQUE
APPLIQUÉE SUR LA PEAU DE L'ANIMAL D'EXPÉRIENCE

par G. RAMON.

Dans un mémoire récent (1), nous avons étudié avec M. Djourichitch l'action toxique et immunisante de la toxine diphtérique appliquée sur la peau de l'animal d'expérience. A ce propos, M. Besredka veut bien nous adresser quelques critiques de détail (2) que nous jugeons mal fondées et injustifiées. Nous allons le prouver.

Pour les besoins de notre étude portant, soulignons-le, sur l'action toxique et immunisante du poison diphtérique, etc... et non pas seulement sur ce que M. Besredka dénomme « l'immunité au feu du rasoir », nous avons eu recours à des expériences variées dont nous avons eu soin d'énumérer et de préciser les conditions dans un chapitre spécial, au début de notre mémoire.

M. Besredka nous fait, en premier lieu, grand grief de ne pas avoir suivi fidèlement sa technique. Il nous reproche en effet « de nous être mis dans des conditions les plus opposées aux siennes » en « rasant la peau des deux côtés » et non d'un seul côté comme il le fait. Chaque expérimentateur n'est-il pas libre de conduire son expérimentation à sa guise et de l'adapter à l'objet de ses recherches? Que M. Besredka nous permette cependant de lui faire remarquer que, malgré tout, dans une série de nos expériences (lapins n^{os} 40, 41-20; 36, 37-20; 32, 33-20; 18, 19-20; 38, 39-20, page 7 de notre mémoire), nous avons rasé (ou épilé) la peau des lapins d'un seul côté, le côté droit, comme lui exactement.

(1) G. RAMON et M. DJOURICHITCH. Ces Annales, 54, 1935, p. 1.

(2) A. BESREDKA, Ces Annales.

En second lieu, M. Besredka écrit ceci : « Quelle que soit l'inter-
« prétation à laquelle on s'arrête (au sujet de l'immunité au feu
« du rasoir), il y en a une que nous répudions sans hésitation :
« c'est précisément celle que nous prêtent MM. R. et D., d'après
« laquelle l'action de la toxine diphtérique se confondrait avec
« celle des *antivirus*. Or, le terme d'*antivirus* ne fut même pas
« mentionné dans notre mémoire, pas plus qu'il ne le fut
« d'ailleurs pas dans celui paru l'année suivante où nous eûmes
« soin de souligner une fois de plus que l'immunité locale
« due au feu du rasoir est une immunité *sui generis*. »

Cette critique se rapporte à un passage de *l'avant-propos* de notre propre mémoire. Dans cet avant-propos, en effet, passant rapidement en revue les travaux de nos devanciers sur les *questions* qui nous intéressaient ou « les *questions connexes* », nous avons cité ceux de M. Besredka en ces termes : « On con-
« naît les travaux de Besredka et de ses collaborateurs sur le
« sujet qui nous occupe ici. Pour notre savant collègue, la
« toxine diphtérique, à l'instar des « *antivirus* », immunise les
« cellules spécifiquement réceptives, par exemple les cellules
« du revêtement cutané sur lequel elle est appliquée à l'aide
« d'une crème » et, ici, de citer les phrases mêmes de M. Besredka résumant l'ensemble de ses conceptions : « *En rasant sim-
« plement la peau du lapin ou mieux encore en frictionnant la
« peau rasée au moyen d'une crème à la lanoline on réalise
« l'immunité locale non spécifique vis-à-vis de la toxine diph-
« térique appliquée, quelques jours après, au même endroit. En
« pratiquant ensuite chez les lapins, la cuti-vaccination au
« moyen de crèmes de plus en plus riches en toxine diphtérique,
« on crée une immunité qui est spécifique et rigoureusement
« locale. Celle-ci permet d'arriver en peu de temps, à réaliser
« l'immunité antidiphtérique générale.* »

Il est clair qu'en reproduisant ces phrases, nous n'avions pas en vue uniquement la dernière conception de M. Besredka : « *L'immunité non spécifique due au feu du rasoir* », mais l'immunité qui résulte de l'application de la toxine diphtérique sur la peau rasée, l'immunité étant considérée ici dans *l'entier développement* que lui donne M. Besredka et que nous avons pris la précaution de rappeler, à savoir : l'immunité locale non spécifique, l'immunité locale spécifique, l'immunité générale.

Or, d'après les idées de M. Besredka, *sans qu'il soit ici question du mécanisme intime du phénomène*, la toxine diphtérique appliquée sur la peau n'immunise-t-elle pas les cellules du revêtement cutané réalisant ainsi « *l'immunité locale spécifique* » à la manière des *antivirus*, de l'*antivirus* staphylococcique par exemple (voir plus loin la citation d'un texte de M. Besredka se rapportant à ce sujet)? L'immunité locale spécifique ainsi créée ne conduit-elle pas à l'immunité générale et cela à la manière encore de l'*antivirus* staphylococcique? (voir les nombreuses publications de M. Besredka à cet égard, en particulier le volume « Antivirusthérapie ». Définition : immunisation par *antivirus* aboutissant à l'immunité générale) [1]. Les sérums eux-mêmes, selon M. Besredka, agissent localement, à la manière des *antivirus*! (2).

Or, que signifie donc l'expression « à l'instar de » que nous avons employée, sinon « à la manière de » (Littré)? Cette expression qui figure, répétons-le encore, dans notre avant-propos et non dans le corps de notre mémoire, n'est-elle pas entièrement justifiée?

Mais il y a mieux. Relisons les premières lignes du second mémoire de M. Besredka sur « L'immunité locale dans la diphtérie » (2), nous y trouvons ceci : « Au cours des expériences « sur l'immunité antidiphtérique, un phénomène inattendu a « particulièrement fixé notre attention. Alors que nous multi-
« plions les essais de vaccination de la peau au moyen de la « toxine dans l'espoir de réaliser l'immunité antidiphtérique « locale, à la manière de (sic) l'immunité anticharbonneuse ou « antistaphylococcique, nous ne fûmes pas peu étonné de nous « apercevoir que l'on pouvait y parvenir sans employer la « toxine... » (3). Qu'est-ce donc pour M. Besredka que l'immu-

(1) et (2). Antivirusthérapie p. 4. Dans ce volume, M. BESREDKA consacre un chapitre spécial à la sérothérapie locale, antistreptococcique, antidysentérique, antitétanique même, etc... et il écrit (247) : « Nous sommes ainsi amenés à admettre que le principe qui intervient dans la sérothérapie locale est le même qui préside à la vaccinothérapie locale. Dans tous les cas, le rôle principal revient à l'*antivirus*, ce dernier entre en réaction avec les cellules réceptives et les vaccine ». En vérité, n'étions-nous donc pas fondé à employer dans le cas qui nous occupe l'expression « à l'instar des *antivirus* »?

(2) A. BESREDKA, « L'immunité locale dans la diphtérie ». Ces *Annales*, 48, 1932, p. 438.

(3) Voir aussi A. BESREDKA, « De la vaccination antidiphtérique par voie cutanée ». Ces *Annales*, 47, 1931, p. 542.

nité antistaphylococcique sinon l'immunité due à « l'antivirus » du même nom? Lorsqu'il conteste avoir mentionné le terme « *antivirus* », M. Besredka voudrait-il, songeant sans doute à certains progrès récents faits dans le domaine de l'immunité antistaphylococcique, nous laisser entendre que, pour lui, « l'immunité antistaphylococcique » n'est plus, à l'heure actuelle, l'immunité due à « l'antivirus »?

En troisième lieu, pour expliquer la cause de ce qu'il appelle notre désaccord, M. Besredka se reporte trente-cinq ans en arrière et rappelle les belles expériences de Römer (que nous avons nous-mêmes évoquées tout récemment en rendant l'hommage qui convient à Ehrlich et à Römer) effectuées non sur la peau du lapin, mais sur l'œil du même animal, et non pas avec la toxine diphtérique mais avec l'abrine, et il nous reproche d'avoir employé, dans certaines de nos expériences des doses trop fortes de toxine (2 cent. cubes). Or, que M. Besredka relise donc les protocoles de ses expériences (1), il constatera que lui-même utilise, soit après une crème au bouillon, ou à l'eau physiologique ou au sérum normal de cheval, des doses de toxine diphtérique de 2 cent. cubes et davantage. Pour le reste, nous ne nous reporterons pas trente-cinq ans en arrière avec M. Besredka, nous ne le suivrons pas dans ses discussions par analogie ou par hypothèse, pas plus que dans ses considérations sur l'action immunisante de la toxine sur les muqueuses. Nous renvoyons pour l'examen de cette dernière question aux notes que nous avons récemment communiquées (2) et aux publications qui doivent paraître prochainement. Les expérimentateurs jugeront.

(1) A. BESREDKA. *Ces Annales*, 46, 1931, p. 542.

(2) Voir G. RAMON et R. RICHOU. *C. R. Soc. Biol.*, 447, 1934, p. 1058 et 1062.

**RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR L'INFECTIONNOSITÉ SPÉCIFIQUE
DES GANGLIONS DE L'AINE
CHEZ LES PARALYTIQUES GÉNÉRAUX
AVANT ET APRÈS
DES TENTATIVES D'ACTIVATION LOCALE
OU DE SURINFECTION**

par A. BESSEMANS (Gand), J. VAN HÉE (Bruxelles)
et J. VAN HAELEST (Gand).

(*Institut d'Hygiène et de Bactériologie
de l'Université de l'État à Gand
et Institut médico-chirurgical du Cinquantenaire à Bruxelles.*)

A. — HISTORIQUE.

Les données de la littérature, qui concernent *l'infectionnosit   spécifique des ganglions lymphatiques dans la syphilis humaine*, peuvent se résumer en quelques lignes comme il suit.

Les adénopathies satellites du *chancre primaire* furent depuis longtemps reconnues hab  t  es par *Treponema pallidum* avec une telle constance que sa mise en évidence par le fond noir, dans le produit de ponction, fut préconisée par plusieurs auteurs (1) comme un moyen de diagnostic en cas de doute.

La même méthode, appliquée dans la *période secondaire* et dans les *stades de latence*, se révéla très infidèle; même l'inoculation des ganglions aux animaux réceptifs ne fut à ces moments que rarement positive (2).

(1) Citons parmi les principaux : Schaudinn et Hoffmann [41], Habermann et Mauelshagen [25], Chauchart et Rapaport [44], Gougerot et Blum [22], Sézary, Lefèbvre et Bouteau [42], Bouteau [42], Lunsford et Day [36].

(2) Voici les noms de quelques chercheurs, qui ont signalé des réussites : Engmann et Ebersson [17], Zieler et H  mel [55], L  ke et Bryant [32], Greenbaum [24], Saleeby et Greenbaum [40], Khatchatourian [30], Lunsford et Day [36].

Au cours du *tertiarisme* et dans l'*hérédosyphilis*, quoiqu'on ait enregistré dernièrement quelques succès par parasitoscopie directe ou par transfert (1), l'infructuosité des essais fut la règle courante, si bien que Bernheim écrivait en 1928 [11] : « Qu'il s'agisse de syphilis acquise tertiaire ou héréditaire tardive, le tréponème n'a jamais été rencontré, à notre connaissance, dans les adénopathies. »

Dans la *syphilis cérébrale* et dans le *tabes*, quelques chercheurs ont signalé la présence de tréponèmes au niveau de diverses glandes lymphatiques (2).

Les ganglions superficiels de *paralytiques généraux* furent examinés également par plusieurs auteurs ; mais, jusqu'à ce jour, seuls Worms et Schultze rapportèrent un résultat positif : ils écrivent notamment [54] qu'à la suite de trois passages fort espacés, chez le lapin, ils virent survenir des orchites tréponémifères transmissibles en série (3).

Quant aux tentatives de *production expérimentale de nouveaux chancres chez les paralytiques généraux*, Hirschl [27] et Siemens [43], bien avant la découverte du tréponème pâle, les entreprirent en se servant de *matériel humain* provenant de cas différents ; Kraus [31] les répéta, suivant la même technique, dans un but de *vaccination thérapeutique* (« ätiologische Syphilistherapie ») ; Sagel [39], Levaditi et Marie [34], Jahnel [28], Jahnel et Lange [29], Prigge et Rutkowski [38] les renouvelèrent en utilisant des *souches syphilitiques entretenues chez le lapin*. Toutes ces tentatives restèrent vaines, sauf une de Jahnel, qui, opérant avec le virus Truffi, vit survenir des papules riches en tréponèmes, à l'endroit de l'inoculation, chez un malade qui avait subi une cure arsénicale très intense et chez qui l'auteur admet que celle-ci serait venue complètement à bout de la

(1) Saleeby et Greebaum [40], Manteufel et Herzberg [37], Hamburger [26].

(2) Faure-Beaulieu et M^{lle} Brun [48] dans le *tabes* ; Gerskovic [21] dans le *tabes* et la *syphilis cérébrale*.

(3) Nous avons trouvé aussi dans la littérature que Syring, se proposant de vérifier les résultats obtenus par Gerskovic, serait parvenu à mettre des tréponèmes en évidence dans les ganglions inguinaux de paralytiques généraux [44]. Seulement, Syring ne donne, dans cette courte notice, aucune précision au sujet de ses travaux et nous n'avons pu découvrir la publication qu'il annonce. Quant au travail de Gerskovic, auquel il fait allusion [21], celui-ci comporte l'examen de ganglions de malades atteints de *syphilis cérébrale* ou de *tabes* et non de paralysie générale.

primo-infection, faisant ainsi disparaître l'immunité antichancreuse.

Cependant, une expérience de Prigge et Rutkowski [38] fournit des résultats qui présentent un intérêt particulier. Il s'agit d'un paralytique général, dont les ganglions inguinaux gauches se montrèrent stériles par transfert intratesticulaire au lapin (suivi d'un second transfert-contrôle) et qui fut contaminé ensuite par scarification à la cuisse droite, au moyen d'une *souche isolée récemment de l'homme* par Frei. Le sujet ne présenta aucune manifestation suspecte au niveau de la zone inoculée. Seulement, lorsque, quatre-vingt-treize jours plus tard, ses ganglions inguinaux droits furent transférés à 4 souris par la voie sous-cutanée et que celles-ci furent sacrifiées au bout d'un an, leurs ganglions lymphatiques et leurs encéphales, greffés dans les testicules de 4 lapins neufs, provoquèrent chez 3 de ceux-ci l'apparition de syphilomes typiques. Les auteurs concluent à la production expérimentale, chez leur malade, d'une *surinfection syphilitique inapparente*.

B. — EXPÉRIENCES PERSONNELLES.

a) OBJET PRINCIPAL. — Devant l'exceptionnelle réussite de Worms, démontrant que les ganglions lymphatiques superficiels dans la paralysie générale peuvent révéler en certains cas une infectiosité spécifique, nous avons *repris la question* en nous adressant, pour les transferts, non seulement au lapin, mais encore à *d'autres espèces réceptives* à la syphilis, à savoir le cobaye et la souris.

Nous avons tâché aussi de produire une *activation ganglionnaire préalable* en inoculant dans la zone, dont les ganglions sont tributaires, des produits capables de déclencher une réaction locale. Nous n'escomptions pas voir survenir des manifestations réactionnelles marquées, car il est connu que les paralytiques généraux ne possèdent qu'une allergie très faible ou nulle. Nous envisagions simplement la possibilité que nos interventions eussent influencé les ganglions dans le sens d'un appel du virus.

Nous avons enfin essayé de *reproduire l'expérience de Prigge et Rutkowski*, c'est-à-dire de contrôler si le tréponème pâle

TABEAU I. — Résultats de diverses épreuves humérales d'échantillons de sang et de liquide céphalo-rachidien, prélevés chez 8 paralytiques généraux, avant et après des inoculations cutanées tendant à provoquer des phénomènes d'activation.

NUMÉROS D'ORDRE des paralytiques généraux et produits utilisés en vue de provoquer des phénomènes d'activation	ÉCHANTILLONS prélevés avant les inoculations								ÉCHANTILLONS prélevés après les inoculations								INTERVALLES (en jours) entre les deux prélèvements
	Réactions sériques				Réactions du liquide céphalo-rachidien				Réactions sériques				Réactions du liquide céphalo-rachidien				
	B. W.	Kahn	M. T. R.	M. K. R. I.	M. B. R. II	B. W.	M. T. R.	M. K. R. I.	M. B. R. II	B. W.	Kahn	M. T. R.	M. K. R. I.	M. B. R. II			
1. Anatoxine diphtérique. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	70	
2. Vaccin antivariolique. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	70	
3. Tuberculine ancienne de Koch.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	70	
4. Syphilome de lapin. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	77	
5. Syphilome de lapin. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	412	
6. Syphilome de lapin. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	412	
7. Cerveau tréponémifère de paralytique général. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	90	
8. Cerveau tréponémifère de paralytique général. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	90	

TABLEAU II. — *Greffes au Lapin de ganglions in avant et après des inoculations cutanées tendant à provoquer et des passages en série chez le Lapin, avec indication*

NUMÉROS D'ORDRE des paralytiques généraux et produits utilisés en vue de provoquer des phénomènes d'activation	GREFFES A PARTIR DE G. avant les inoculations				
	Lapins primo-inoculés			Lapins de 1 ^{re} passage	
	Marques	Durées des survies (en jours)	Dates des transferts (en jours après la greffe)	Marques	Durées des survies (en jours)
1. Anatoxine diphtérique	A/732	88	82	A/784	205
	A/733	860	389	A/241	31
	A/734	18	18	A/749	85
	A/735	23	23	A/789	20
2. Vaccin antivariolique.	A/736	26	26	A/798	96
	A/737	21	—	—	—
	A/738	120	22	A/788	25
3. Tuberculine ancienne de Koch.	A/739	3	—	—	—
	A/740	182	143	A/914	495
	A/904	254	—	—	—
	A/905	296	—	—	—
4. Syphilome de lapin.	A/906	387	306	A/750	580
	A/910	193	—	—	—
	A/911	41	—	—	—
5. Syphilome de lapin.	A/908	214	—	—	—
	A/909	771	698	B/700	45
	A/942	730	565	B/625	216
7. Cerveau tréponémifère de pa- ralytique général	A/943	369	228	B/246	33
	A/944	328	—	—	—
8. Cerveau tréponémifère de pa- ralytique général	—	—	—	—	—

d'une tentative de surcontamination, tout en ne provoquant pas de chancre au niveau de son inoculation par la peau, est capable d'envahir les ganglions correspondants.

b) TECHNIQUE. — Nos expériences purent être instituées grâce à l'aimable obligeance et à la collaboration éclairée du professeur A. Ley, des D^{rs} J. Ley, J. Titeca et Baonville (Bruxelles), du D^r Van Engeland (Grimbergen) et des D^{rs} Peters et Dewals (Cortenbergh). Elles concernent 8 paralytiques généraux, dont 5 hommes et 3 femmes de quarante-deux à soixante-neuf ans, aucun d'eux n'ayant subi une cure de malarisation.

Les produits destinés à la production éventuelle d'une activation locale furent du vaccin antivariolique frais (Office vaccino-

chez 8 paralytiques généraux,
phénomènes d'activation : échec des primo-inoculations
de jours que dura l'observation des animaux.

		GREFFES A PARTIR DE GANGLIONS PRÉLEVÉS après les inoculations cutanées						INTERVALLES (en jours) entre les deux prélèvements
Lapins primo-inoculés		Lapins de 1 ^{er} passage			Lapins de 2 ^e passage			
Durées des survies (en jours)	Marques	Durées des survies (en jours)	Dates des transferts (en jours après la greffe)	Marques	Durées des survies (en jours)	Dates des transferts (en jours après la greffe)	Marques	
—	A/827	119	39	A/898	5	—	—	—
266	A/828	166	151	B/5	64	—	—	—
	A/829	167	152	B/5	63	—	—	—
	A/830	23	—	—	—	—	—	—
—	A/831	103	80	A/912	20	—	—	—
—	A/832	167	151	B/6	33	—	—	—
—	A/833	44	—	—	—	—	—	—
252	A/834	168	—	B/7	175	175	B/210	31
	A/835	7	151	—	—	—	—	—
	A/967	273	—	B/251	479	423	B/698	84
—	A/968	34	188	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	B/37	43	—	—	—	—	—	—
—	B/38	23	—	—	—	—	—	—
—	B/35	715	—	B/701	164	104	B/780	148
—	B/36	342	587	B/239	41	—	—	—
82	A/972	141	113	B/145	586	502	B/710	95
	B/1	495	112	B/145	586	502	B/710	95
—	B/39	119	—	—	—	—	—	—
—	B/40	108	—	—	—	—	—	—

gène central de l'État), de la tuberculine ancienne de Koch et de l'anatoxine diphtérique (Institut Pasteur de Paris). Les germes utilisés en vue d'une surinfection provenaient soit de jeunes syphilomes testiculaires de lapin (souche Gand, Ch. 1), richement tréponémifères et extirpés au moment même, soit d'un fragment d'encéphale de paralytique général (cas 7) riche en longs tréponèmes typiques et bien mobiles, prélevé sur place immédiatement avant l'emploi, et dont la plus grande partie (les deux tiers) servit à des contrôles de virulence, que nous avons relatés ailleurs [2].

Les vaccinations, les tuberculinisations et les essais de surinfection furent effectués toujours au niveau de la face interne de la cuisse droite. Les vaccinations furent faites suivant les tech-

TABLEAU III. — *Greffes au Cobaye ou à la Souris de ganglions inoculés avant ou après des inoculations cutanées tendant à provoquer et des passages en série chez le Lapin, avec indication*

NUMÉROS D'ORDRE des paralytiques généraux et produits utilisés en vue de provoquer des phénomènes d'activation	GREFFES A PARTIR DE GANGLIONS avant les inoculations				
	Animaux primo-inoculés			Lapins de 1 ^{er} passage	
	Espaces et marques	Durées des survies (en jours)	Dates des transferts (en jours après la greffe)	Marques	Durées des survies (en jours)
1. Anatoxine diphtérique . . .	Cobaye 1.	12	12	A/762	202
	Souris 1.	150	150	A/915	44
2. Vaccin antivaricelleux . . .	Cobaye 2.	410	143	A/913	44
3. Tuberculine ancienne de Koch.	Souris 2.	25	25	A/791	26
4. Syphilome de lapin.	Cobaye 3.	245	245	B/229	200
5. Syphilome de lapin.	—	—	—	—	—
6. Syphilome de lapin.	Souris 3.	245	245	B/230	22
7. Cerveau tréponémifère de paralytique général	Cobaye 4.	150	115	B/59	82
8. Cerveau tréponémifère de paralytique général	Cobaye 5.	229	229	B/244	54

niques habituelles et comportèrent, pour l'anatoxine, 0 c. c. 5, 1 cent. cube, 1 c. c. 5, avec deux intervalles de trois semaines. Les tuberculinisations furent pratiquées deux fois à trois semaines de distance ; de même que les surinfections syphilitiques, elles furent appliquées par scarifications superficielles, s'étendant sur des zones de 5 centimètres sur 5 chacune. Les tréponèmes furent frottés soigneusement dans les plaies et laissés durant dix à vingt minutes en contact humide à l'air libre, avant l'application d'un pansement aseptique. Toutes ces opérations furent précédées immédiatement de l'extirpation des ganglions de l'aîne gauche, tandis que les ganglions satellites des zones inoculées furent enlevés trente-huit à cent douze jours plus tard, soit : soixante-dix jours (cas 1 à 3), soixante-treize (cas 4), cent douze (cas 5 et 6), trente-huit (cas 7) et quatre-vingt-dix (cas 8).

Chaque fois, avant de procéder aux exérèses ganglionnaires, un prélèvement de sang et de liquide céphalo-rachidien fut

vés chez 8 paralytiques généraux,
 phénomènes d'activation : échec des primo-inoculations
 de jours, que dura l'observation des animaux.

Lapins passage		GREFFES A PARTIR DE GANGLIONS PRÉLEVÉS après les inoculations cutanées								INTERVALLES (en jours) entre les deux prélèvements	
		Animaux primo-inoculés				Lapins de 1 ^{er} passage			Lapins de 2 ^e passage		
Durées des survies (en jours)	Espèces et marques	Durées des survies (en jours)	Dates des transferts (en jours après la greffe)	Marques	Durées des survies (en jours)	Dates des transferts (en jours après la greffe)	Marques	Durées des survies (en jours)			
48	Cobaye 6.	5	5	A/847	58	—	—	—	70		
—	Souris 4.	80	80	A/916	133	—	—	—	70		
—	Cobaye 7.	505	212	B/231	151	—	—	—	70		
—	Cobaye 8.	450	151	A/917	130	87	B/153	420	70		
—	Cobaye 9	630	630	B/712	95	—	—	—	77		
—	Souris 5.	188	188	B/250	506	423	B/698	84	112		
—	Cobaye 10.	630	630	B/711	48	—	—	—	112		
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
—	Souris 6.	420	420	B/232	217	—	—	—	90		

pratiqué en vue de diverses analyses, le culot de centrifugation
 de ce dernier subissant aussitôt un examen minutieux au fond
 noir. Chaque fois aussi, les *ganglions extirpés furent découpés*
en plusieurs parcelles, dont les unes subirent un *examen pro-*
longé au fond noir, tandis que les autres furent *inoculées*
de suite dans le testicule chez le *lapin*, dans le testicule et sous
 le scrotum ou sous la peau des grandes lèvres chez le *cobaye* (1),
 par voie sous-cutanée au niveau du flanc chez la *souris*. Les
 animaux inoculés furent maintenus en observation durant
 plusieurs mois. Ils servirent ensuite à des *passages en série sur*
lapins, par voie intratesticulaire, les lapins à partir de leurs
 ganglions poplités et inguinaux, les cobayes à partir des gan-
 glions inguinaux et axillaires, les souris à partir des ganglions

(1) La réceptivité du *cobaye* pour du matériel syphilitique apparemment
 dépourvu de tréponèmes (ganglions de lapin et de cobaye) et l'efficacité
 plus grande de certaines voies d'inoculation en vue de l'obtention d'accidents
 primaires avec adénopathie spécifique firent l'objet de mémoires publiés par
 l'un de nous (47, 48, 49).

TABLEAU IV. — Réactions sériques de Lapins greffés directement

NUMÉROS D'ORDRE des paralytiques généraux et produits utilisés en vue de provoquer des phénomènes d'activation	LAPINS GREFFES A PARTIR DE G. avant les ind				
	Marques	Filiations	Dates des prélèvements sanguins (en jours après la greffe)	R	
				B. W.	Kahn
1. Anatoxine diphtérique . . .	A/733	Primo-ir oculé.	210 245 827	++ — —	++ + —
2. Vaccin antivariolique . . .					
3. Tuberculine ancienne de Koch.	A/914	Premier passage (à partir du lapin).	72 107	— —	++ ++
6. Syphilome de lapin	A/909	Primo-inoculé.	680	—	—
7. Cerveau tréponémifère de paralytique général	A/942	Primo-inoculé.	664	—	—

superficiels, de la rate et du cerveau. Différentes épreuves sériques furent pratiquées chez les lapins.

c) RÉSULTATS DES EXAMENS IMMÉDIATS. — 1° *Aspect macroscopique des ganglions.* Les ganglions satellites de la zone, au niveau de laquelle nous avons tenté de provoquer des phénomènes réactionnels, présentèrent un *aspect semblable* à celui des ganglions de l'aîne opposée, prélevés avant les interventions, sauf dans les cas 4 à 6 (essais de surinfection au moyen de syphilome de lapin), où nous notâmes une légère hyperémie; dans le dernier de ces cas, elle était vraisemblablement en relation avec l'existence d'escarres de décubitus au siège.

2° *Recherche de tréponèmes dans les ganglions.* — Les contrôles au fond noir furent effectués sur les émulsions fraîches de fragments de tous les ganglions prélevés, soit seize examens, dont huit avant et huit après les diverses manipulations tendant à provoquer des phénomènes réactionnels. Chaque contrôle comporta l'examen d'environ 200 champs. *L'échec fut constant.*

3° *Réactions cutanées au niveau des inoculations et manifestations cliniques générales.* Quels que fussent les produits inoculés (anatoxine diphtérique, vaccin antivariolique, tuberculine ancienne de Koch, syphilome de lapin, cerveau tréponémifère

à partir de ganglions inguinaux de paralytiques généraux.

VÉS es		LAPINS GREFFÉS A PARTIR DE GANGLIONS PRÉLEVÉS après les inoculations cutanées							INTERVALLES (en jours) entre les deux prélèvements	
tes		M. B. R.-II	Marques	Filiations	Dates des prélèvements sanguins (en jours après la greffe)	Réactions sériques				
						B. W.	Kahn	M. T. R.	M. K. R.-I	M. B. R.-II
++	++	A/829	Primo-inoculé.	460	++	++	++	++	++	70
-	-	A/916	Premier passage (à partir de la souris.	72	-	++	-	-	++	
++	++	A/832	Primo-inoculé.	460	-	-	-	-	-	70
-	-	A/834	Primo-inoculé.	460	-	+	-	-	-	70
-	-	B/33	Primo-inoculé.	588	-	-	-	-	-	112
-	-	B/145	Premier passage (à partir du lapin).	514	-	-	-	+	-	38

de paralytique général), les malades ne réagirent que par des phénomènes d'irritation banale, consécutive aux traumatismes (1). Pas plus qu'au niveau de l'inoculation, des symptômes de surinfection syphilitique ne se manifestèrent ailleurs. La paralysie générale elle-même ne subit aucune modification apparente dans son évolution.

4° Recherche de tréponèmes dans le liquide céphalo rachidien. Malgré le soin et le temps que nous avons mis à l'examen immédiat du culot de centrifugation de 16 échantillons, dont 8 prélevés avant et 8 de trente-huit à cent douze jours après les inoculations, jamais nous n'avons pu mettre en évidence, par le fond noir, la présence de *Treponema pallidum* (2).

5° Réactions humérales. — Le Wassermann et plusieurs réactions de floculation furent recherchés dans tous les échantil-

(1) La même constatation fut faite à la suite d'essais similaires, institués par le Dr Van Engeland, sur d'autres paralytiques généraux du sexe masculin et âgés de quarante-cinq à soixante-cinq ans, soit : 3 sujets vaccinés à l'anatoxine diphtérique, 3 autres contre la variole, 3 autres encore éprouvés à deux reprises vis-à-vis du T. A. K. L'ensemble de ces faits confirme une fois de plus l'état anallergique caractéristique de la maladie de Bayle.

(2) Ces résultats peuvent être rapprochés de nos échecs par inoculation, chez le lapin, de 12 échantillons prélevés en 1930 chez des paralytiques généraux, dont l'état méningé avait été réactivé la veille par l'injection intrarachidienne d'eau distillée (4).

lons de sang et de liquide céphalo-rachidien prélevés avant ou après les inoculations cutanées, soit dans trente produits (le cas 7 étant décédé dans l'intervalle). Leurs signes, consignés dans le tableau I, correspondent à l'annotation simplifiée, préconisée par les Conférences internationales de laboratoire [57] et appliquée depuis avril 1933 à l'Institut d'Hygiène et de Bactériologie de l'État à Gand [3]. Les résultats, qui concernent le sang et le liquide du premier prélèvement chez les cas 7 et 8, nous furent aimablement communiqués par les D^{rs} Titeca et Baonville. Ils comportent, en plus de ce que notre tableau relate : pour le sang, un Hecht positif; pour le liquide, un Ravaut, un Pandy, un Weichbrodt et un benjoin positifs. L'examen du tableau I pourrait donner l'impression que, chez certains malades, l'essai de surcontamination syphilitique eût déterminé tardivement dans le liquide rachidien, plus tôt aussi et plus fort dans le sang, l'activation d'une ou plusieurs réactions spécifiques. Seulement, l'évolution de la paralysie générale est telle que nos observations sont trop peu nombreuses pour nous autoriser à conclure ainsi.

Nous avons procédé également, pour la plupart des liquides, à la détermination du pH et à la numération lymphocytaire. La première donna des chiffres de 7,2 à 8,2, sans que d'autres conclusions pussent s'en déduire que celles énoncées par l'un de nous et Thiry, à propos d'une série de mensurations analogues (7 et 8). La seconde révéla des teneurs de 10 à 50 éléments par millimètre cube, sans qu'elle autorisât de conclure à la causalité des interventions dans les modifications numériques observées.

d) RÉSULTATS DES TRANSFERTS AUX ANIMAUX. — Quoique de nombreuses inoculations en série aient été effectuées à partir de lapins, de cobayes et de souris, quoiqu'au surplus les animaux soient restés longtemps en observation, *nulle part ne s'est produite la moindre manifestation suspecte de syphilisation*. Les tableaux II et III donnent un aperçu de l'ensemble des tentatives instituées.

Les résultats des épreuves sériques pratiquées chez certains lapins inoculés figurent au tableau IV (1). Nous n'avons pas

(1) Même annotation simplifiée qu'au tableau I.

voulu multiplier ces examens, attendu que des statistiques dressées en notre laboratoire vers la même époque établissent que ni le Wassermann, ni les réactions principales de floculation (dont le Kahn, le M. T. R., le M. K. R. I et le M. B. R. II), ne peuvent servir de critère pour apprécier le degré ni la présence de l'infection syphilitique chez le lapin (1, 5). D'ailleurs, plusieurs de nos lapins avaient été soumis aux mêmes épreuves, lorsqu'ils étaient encore neufs : chez eux aussi, des Wassermann et des réactions de floculation plus ou moins positives furent enregistrées de temps à autre.

C. — REMARQUES ET CONSIDÉRATIONS.

a) RECHERCHE DE TRÉPONÈMES AU FOND NOIR. — Nous ne nous illusionnons pas sur la portée des résultats négatifs, que nous ont fournis les examens directs, au fond noir, des émulsions ganglionnaires et de culots de centrifugation des liquides encéphalo-rachidiens de nos malades. En effet, *il faudrait la présence d'un nombre considérable de tréponèmes pour que la technique suivie parvint à les mettre en évidence, les contrôles effectués par nous sur des ganglions de lapins syphilitisés le confirment manifestement* [49]. Au surplus, d'après nos observations [49, 50, 51], il est vraisemblable que la virulence des ganglions chez le lapin peut être conditionnée par la présence d'un seul tréponème doué de pleine vitalité, ce qui fait qu'en supposant qu'il en fût de même chez l'homme et que tout spirochète présent dans la préparation ganglionnaire fût décelé au fond noir, il faudrait, pour qu'un résultat négatif permit d'affirmer la non-infectiosité, que *l'examen eût porté sur la totalité de l'organe*.

b) ECHÉANCE TARDIVE DES TRANSFERTS. — Si nous avons attendu de longs mois avant de transférer les organes de la plupart de nos animaux primo-inoculés ainsi que de nos lapins de passage, c'est d'abord que, d'après la littérature et en particulier d'après les expériences de Worms et Schultz [54], il paraît que *nombre d'insuccès soient dus à des transferts trop précoces*; c'est ensuite que, d'après les résultats expérimentaux obtenus par différents auteurs et nous-mêmes [15, 45, 46, 49, 52, 56], résul-

tals corroborés depuis par Gastinel et Pulvenis [20], *plus est faible la quantité du virus initial, plus longue devient la période de temps qu'exige la possibilité de sa mise en évidence chez l'animal inoculé*. L'on sait d'ailleurs, en ce qui concerne la souris, par exemple, que, consécutivement à une inoculation sous-cutanée de produits syphilitiques, il faut au moins soixante-dix jours avant que son encéphale soit capable de transmettre la maladie au lapin [9, 33].

c) NÉGATIVITÉ DES TRANSFERTS GANGLIONNAIRES EN DEHORS DES TENTATIVES DE SURINFECTION. — Ainsi que nous l'avons signalé dans l'historique, Worms et Schultze [54] *furent les seuls à déceler la virulence spécifique des ganglions inguinaux de paralytiques généraux, notamment en les transférant au lapin*; ils ne réussirent d'ailleurs que dans 1 cas sur 10 et crurent devoir attribuer leur succès à la longue attente qu'ils s'imposèrent préalablement aux transferts, soit dix mois après la primo-inoculation, cent quatorze à cent trente-quatre jours après le premier passage. Nous pensons devoir souligner que *nos expériences ont été réalisées suivant une technique analogue à celle de Worms et Schultze*. Aussi estimons-nous que l'interprétation qu'ils avancent de leur unique résultat positif est plausible, c'est-à-dire que le *tréponème pâle isolé par eux serait originaire d'un « Restpirochätendepot einer regionär erkranktgewesenen Drüse »*. Nous partageons entièrement l'avis que *le tréponème, dont relève la paralysie générale, a complètement perdu sa virulence spécifique, nos expériences instituées sur l'animal avec l'encéphale du cas 7 en constituent la preuve* [2].

d) NÉGATIVITÉ DES TRANSFERTS GANGLIONNAIRES APRÈS TENTATIVES DE SURINFECTION. — Dans ce domaine, nous l'avons rappelé, nous ne connaissons que *la seule expérience de Prigge et Rutkowski [38] par l'intermédiaire de la souris*. Or, il y a lieu de remarquer que les essais du même genre, que nous avons institués, sont quintuples et comportent l'utilisation, à côté de tréponèmes provenant du lapin (3 cas), de tréponèmes prélevés au moment même dans le névraxe d'un paralytique général (2 cas), ensuite (dans l'un de ceux-ci) l'inoculation d'une parcelle de névraxe au sujet même dont elle provenait, enfin des

contrôles par la voie non seulement de la souris, mais encore du lapin et du cobaye, avec sous-transferts ultérieurs chez le lapin. Il est vrai que, depuis notre démonstration directe de l'avirulence du tréponème de la paralysie générale [2], l'insuccès de nos tentatives de surinfection avec l'encéphale du cas 7 n'a plus de quoi nous étonner. Il est vrai aussi que, sur nos quatre souris primo-inoculées avec les ganglions de l'un des 3 premiers cas, 3 succombèrent accidentellement avant le troisième jour, ce qui fait qu'au succès des auteurs précités nous ne pouvons opposer qu'un seul échec enregistré dans des conditions semblables (souris 5). *Que penser néanmoins de ce dernier et de nos autres résultats négatifs?*

Faut-il incriminer la plus grande ancienneté de notre souche lapin (celle de Prigge et Rutkowski fut « récemment isolée par Frei ») et, en ce qui concerne notre souris survivante, n'aurions-nous pas attendu assez longtemps avant de transférer les ganglions superficiels, la rate et le cerveau (cent quatre-vingt-huit jours contre une année dans l'expérience de Prigge et Rutkowski)? *La première éventualité pourrait, certes, être envisagée.* Cependant, divers accidents de laboratoire, relatés entre autres par Buschke [13], Graetz et Delbanco [23], Levaditi et Marie [34], Wakerlin [53], semblent démontrer que l'entretien du virus syphilitique par passages en série chez le lapin, respectivement durant une à deux, six et treize années, ne diminue pas sa virulence pour l'homme; chose qui paraît s'appliquer également aux tréponèmes, que nous avons employés, puisqu'en 1924, d'après une note de Gahylle [49], un travailleur de notre Institut s'est contaminé en manipulant une de nos souches, isolée de l'homme deux ans auparavant, c'est-à-dire vers la même époque que celle que nous avons utilisée (4). *Quant à la seconde hypothèse, nous estimons qu'elle est peu vraisemblable.* Car nous savons que, chez la souris syphilitisée par produits de lapin, cent quatre-vingt-huit jours dépassent largement la durée qu'il faut (respectivement, d'après nos observations, quinze, quinze et soixante-dix) pour que les

(4) Cependant, Levaditi et Vaisman estiment que leur virus Truffi, entretenu pendant vingt-trois ans sur le lapin, a subi une diminution manifeste de virulence chez le chimpanzé, au point qu'ils se proposent de rechercher si grâce à cette atténuation il n'est pas capable de conférer l'immunité [35].

organes considérés (ganglions superficiels, rate et cerveau) se révèlent virulents par transfert [9]; que d'ailleurs, chez le même animal ainsi contaminé, le virus spécifique ne paraît pas se multiplier, attendu que non seulement la teneur tréponémique des ganglions superficiels et de la rate, une fois envahis, ne dépend pas de l'éloignement du moment de l'inoculation [49, 50], mais encore que les transferts en série finissent par échouer rapidement [9]. Quoi qu'il en soit, la valeur prédominante du résultat positif de Prigge et Rutkowski reste entière, encore qu'il soit souhaitable que de nouveaux succès semblables viennent en asseoir solidement la signification.

D. — CONCLUSIONS.

1° L'utilisation non seulement du lapin, mais encore du cobaye et de la souris ne nous a pas permis de démontrer l'infectiosité spécifique des ganglions inguinaux de 8 paralytiques généraux.

2° Diverses inoculations cutanées, pratiquées en vue d'une activation ganglionnaire chez ces mêmes malades, ne nous ont conduits qu'à des échecs.

3° Tout en nous plaçant dans les mêmes et dans d'autres conditions expérimentales que Prigge et Rutkowski, nous avons constaté qu'en essayant de surinfecter des paralytiques généraux (5 cas) par scarification cutanée, au moyen soit d'une souche syphilitique entretenue sur lapin (3 cas), soit d'une souche tréponémifère fraîchement prélevée dans leur propre encéphale (1 cas) ou dans celui d'un autre (1 cas), il ne survient aucune manifestation spécifique, ni à l'endroit de la tentative de surcontamination, ni ailleurs. En outre, il nous a été impossible, en recourant à des transferts en série chez le lapin, à partir de primo-inoculations effectuées chez le lapin, le cobaye et la souris, de confirmer l'unique observation des deux auteurs précités, suivant laquelle le virus de l'essai de surinfection pourrait, malgré l'absence d'action chancrigène, envahir et rendre virulents les ganglions satellites de la zone inoculée.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ASAERT (L.). Nieuwe onderzoeken betreffende de proeven voor diagnose van syphilis op bloedwei en spinaal vocht. *Thèse*, février 1934, Université de l'État, à Gand.
- [2] BESSEMANS (A.). *Bull. Acad. Méd. Paris*, **112**, n° 31, octobre 1934, p. 255.
- [3] BESSEMANS (A.). *Geneeskundige Bladen uit België*, **1**, n° 4, avril 1933, p. 67
Vl. Geneesk. Tijdschr., n° 14, 8 avril 1933, p. 276.
- [4] BESSEMANS (A.) et DE POTTER (Fr.). *C. R. Soc. Biol.*, **405**, 1930, p. 212.
- [5] BESSEMANS (A.) et DE POTTER (Fr.). *C. R. Soc. Biol.*, **114**, 1933, p. 532.
- [6] BESSEMANS (A.), DE POTTER (Fr.) et THIRY (U.). *Arch. intern. méd. expér.*, **6**, 1931, p. 443; *Acta brevia neerl.*, **1**, 1931, p. 115.
- [7] BESSEMANS (A.) et THIRY (U.). *C. R. Soc. Biol.*, **112**, 1933, p. 1252.
- [8] BESSEMANS (A.) et THIRY (U.). *Rev. belge Sciences méd.*, **5**, n° 3, mars 1933, p. 208.
- [9] BESSEMANS (A.) et VAN HÆLST (J.). *C. R. Soc. Biol.*, **115**, 1934, p. 1395.
- [10] BESSEMANS (A.) et VLAEYEN (N.). *Arch. intern. méd. expér.*, **4**, 1929, p. 471.
- [11] BERNHEIM (M.). Contribution à l'étude des réactions ganglionnaires au cours de l'hérédo-syphilis tardive. *Thèse de Lyon*, 1928.
- [12] BOUTTEAU (P.). Le diagnostic précoce de la syphilis par la recherche du tréponème dans le suc de l'adénopathie primaire. *Thèse de Paris*, 1931.
- [13] BUSCHKE (A.). *Deutsche med. Woch.*, **39**, 1913, p. 1783.
- [14] CHAUCHART (H.) et RAPAPORT (N.). *Arch. Inst. Prophyl.*, **2**, n° 4, 1930, p. 389.
- [15] CHESNEY (A. M.) et KEMP (J. E.). *Journ. of exper. med.*, **41**, 1925, p. 479.
- [16] DUJARDIN (B.). Rapport présenté à la Conférence Internationale de Défense sociale contre la syphilis, tenue à Paris du 9 au 12 mai 1932 (d'après *Bruxelles Médical*, n° 33, 1932, p. 925).
- [17] ENGMANN (R.) et EBERSON (Fr.). *Arch. of Dermatol. and Syphilis*, **3**, 1921, p. 347.
- [18] FAURE-BEAULIEU et M^{lle} BRUN (C.). *Ann. de Dermat. and Syphiligr.*, **2**, 1931, p. 1049.
- [19] GAYLLE (D.). *C. R. Soc. Biol.*, **91**, 1924, p. 941.
- [20] GASTINEL (P.) et PULVENIS (R.). *Bull. Soc. franç. Dermatol. et Syphiligr.*, n° 2, 1934, p. 330.
- [21] GERSKOVIC (L. S.). *Zeitschr. gesamt. Neurol. u. Psych.*, **122**, 1929, p. 442.
- [22] GOUGEROT (H.) et BLUM (P.). *Paris Médical*, 1^{er} mars 1930, p. 207.
- [23] GRAETZ (F.) et DELBANCO (E.). *Mediz. Klin.*, n° 10, 1914, p. 420.
- [24] GREENBAUM (S.). *Journ. Amer. Med. Assoc.*, **94**, 1930, p. 347.
- [25] HABERMANN (R.) et MAUELSHAGEN (F.). *Deuts. med. Woch.*, **45**, 1919, p. 514.
- [26] HAMBURGER (R.). *Monatschr. Kinderheilk.*, **42**, 1929, p. 198.
- [27] HIRSCHL, d'après KRAFFT-EBING, Die Aetiologie der progressiven Paralyse, Vortrag auf dem Internation. Mediz. Kongress zu Moskau, 1897 (d'après PRIGGE et RUTKOWSKI, 38).
- [28] JAHNEL (F.). *Zeitschr. gesamt. Neurol. u. Psych.*, **101**, 1926, p. 210.
- [29] JAHNEL (F.) et LANGE (J.). *Munch. med. Woch.*, **73**, 1926, p. 1875.
- [30] KHATCHATOURIAN (G. Kh.). *Sov. Vestn. Vener. i. Dermat.*, nos 3 et 4, 1933, p. 180 et 186 (d'après *Ann. de Dermatol. et Syphiligr.*, **5**, 1934, p. 100).
- [31] KRAUS (R.). *W. kl. Woch.*, n° 41, 1905, p. 1052 (d'après PRIGGE et RUTKOWSKI, 38).

- [32] LAKE (G. C.) et BRYANT (K. K.), National Institute of Health, Bulletin n° 157. *Publ. Health. Rep.*, 45, 1930, p. 2613 (d'après WORMS et SCHULTZE, 55).
- [33] LÉPINE (P.). *C. R. Soc. Biol.*, 101, 1929, p. 777.
- [34] LEVADITI (C.) et MARIE (A.), de Villejuif. *Ces Annales*, 33, 1919, p. 741.
- [35] LEVADITI (C.) et VAISMAN (A.). *C. R. Soc. Biol.*, 109, 1932, p. 619.
- [36] LUNSFORD et DAY. *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 102, 1934, p. 448.
- [37] MANTEUFEL et HERZBERG. *Zentralbl. f. Haut- u. Geschlechtskrankh.*, 30, 1929, p. 301.
- [38] PRIGGE (R.) et RUTKOWSKI (E.). *Deutsche med. Woch.*, n° 36, 1929, p. 1508.
- [39] SAGEL (W.). *Deutsche med. Woch.*, n° 19, 1926, p. 778.
- [40] SALEEBY (E.) et GREENBAUM (S. S.). *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 96, 1931, p. 98.
- [41] SCHAUDINN (Fr.) et HOFFMANN (E.). *Deutsche med. Woch.*, n° 18, 1905, p. 711.
- [42] SÉZARY (A.), LEFEBVRE (P.) et BOUTTEAU (P.). *La Presse Médicale*, 40, 1932, p. 1183.
- [43] SIEMENS. *Zentralbl. gesamt. Neurol. u. Psych.*, 38, n° 8, 1924, p. 479.
- [44] SYRING (P.). *Deutsche med. Woch.*, n° 51, 1931, p. 2155.
- [45] UHLENHUTH (P.) et MULZER (P.), cité d'après MULZER (P.), *Handbuch der Haut- u. Geschlechtskrankh.*, J. Springer (Berlin), 1927.
- [46] VAN HÆLST (J.). *C. R. Soc. Biol.*, 113, 1933, p. 81.
- [47] VAN HÆLST (J.). *Ces Annales*, 49, 1932, p. 778.
- [48] VAN HÆLST (J.). *Ces Annales*, 51, 1933, p. 714.
- [49] VAN HÆLST (J.). *Arch. intern. méd. expér.*, 8, 1933, p. 543.
- [50] VAN HÆLST (J.). *Vl. Geneesk. Tijdschr.*, n° 9, 1934, p. 161.
- [51] VAN HÆLST (J.). *Dermatol. Zeitschr.*, 69, 1934, p. 212.
- [52] WAKERLIN (G. E.). *Journ. Infect. Dis.*, 38, 1926, p. 323.
- [53] WAKERLIN (G. E.). *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 98, 1932, p. 479.
- [54] WORMS (W.) et SCHULTZE (F. O.). *Deutsche med. Woch.*, n° 57, 1931, p. 1856.
- [55] ZIELER (K.) et HAMEL (J.). *Arch. Staatsinst. exper. Ther. Georg Speyer-H.*, n° 21, 1928, p. 207.
- [56] ZIMMERMANN. *Arch. f. Hyg.*, 103, 1930, p. 269.
- [57] Rapport de la Conférence de laboratoire sur le séro-diagnostic de la syphilis convoquée à Montevideo du 15 au 26 septembre 1930, *Société des Nations*, mars 1931, C. H. 963.

**RECHERCHES ANATOMO-CLINIQUES
ET EXPÉRIMENTALES
SUR UN CAS D'ENCÉPHALO-MYÉLITE RABIQUE
SURVENUE AU COURS D'UN TRAITEMENT PASTEURIEN**

par MM.

G. MARINESCO,
membre associé étranger
de l'Académie de Médecine
de Paris.

et

STATE DRAGANESCO,
ancien chef de clinique
à la Faculté de Médecine
de Strasbourg.

Beaucoup de questions concernant la pathologie générale de l'infection rabique et spécialement de la rage humaine doivent être précisées davantage. L'évolution extrêmement rapide de cette maladie et le cadre dramatique dans lequel elle se déroule expliquent, dans une certaine mesure, les lacunes de nos connaissances cliniques et biologiques.

Une de ces lacunes concerne l'incubation. On a vu que le délai de quinze à trente jours, attribué en général à cette incubation peut être de beaucoup dépassé ou raccourci. Les intéressantes recherches sur les virus renforcés ont démontré, comme nous allons le voir plus loin, que certains virus de rue peuvent déclencher l'infection, quel que soit le siège de la morsure, même après quelques jours. D'autre part, il existe des cas de rage chez l'homme, déclarée même après un traitement préventif considéré comme suffisant. Nous avons rencontré un cas de ce genre autrefois; il s'agissait d'un sujet qui succomba aux suites de la rage, apparue une année après la vaccination. De tels faits enrichissent nos connaissances de pathologie générale et c'est là la raison pour laquelle nous croyons utile de communiquer un cas de syndrome de Landry apparu au cours d'un traitement antirabique.

Le malade ayant succombé dans notre service, nous eûmes la possibilité de pratiquer un examen anatomo-pathologique complet du système nerveux et d'entreprendre une série de

recherches expérimentales. Ces recherches nous ont aidés à préciser la nature de cette paralysie ascendante que nous avons attribuée tout d'abord à une encéphalo-myélite post-vaccinale et qui, en réalité, était une infection rabique.

Nous allons donner l'observation de notre cas, puis les résultats de l'étude histo-pathologique et de nos recherches expérimentales.

OBSERVATION. — Le 28 septembre 1933, on amène à la clinique neurologique le malade Al. Ot..., âgé de quarante-deux ans, ayant une paraplégie flasque avec rétention d'urine, état anxieux, fièvre.

Le 11 septembre 1933, le malade eut deux écorchures à la face dorsale du pouce gauche, provoquées par la morsure d'un chien. C'est vers le 14 septembre qu'il va à l'Institut Babès pour suivre un traitement anti-rabique, soupçonnant que le chien était enragé. On commence immédiatement les injections préventives — d'après la méthode de Babès — qui sont poursuivies pendant treize jours; ensuite le malade ne se présente plus à l'Institut. Pendant cet intervalle, on lui fait des piqûres de la manière suivante :

Le 14 septembre, dose n° 6, le matin (émulsion cérébrale chauffée à 65°); dose n° 5, le soir (émulsion cérébrale chauffée à 65°).

Le 15 septembre, dose n° 4, le matin (émulsion cérébrale chauffée à 60°); dose n° 3, le soir (émulsion cérébrale chauffée à 60°).

Le 16 septembre, dose n° 2, le matin (émulsion cérébrale chauffée à 55°); dose n° 1, le soir (émulsion cérébrale chauffée à 55°).

Le 17 septembre, doses n° 1 et 0 (émulsion cérébrale chauffée à 50°).

On continue la même dose jusqu'au 26 septembre, où on suspend le traitement. Des mêmes émulsions, on a fait des injections préventives à d'autres sujets fréquentant le service.

Le 26 septembre, dans l'après-midi, le malade ressent de violentes coliques abdominales. La nuit, apparaissent de violentes douleurs lombaires et, le lendemain, des douleurs dans les membres inférieurs et une paralysie des jambes avec rétention d'urine. Dans cet état, on l'amène à l'hôpital Colentina.

Le 30 septembre, il est admis dans le service neurologique.

Voici ce que nous constatons à l'examen neurologique pratiqué à ce moment :

Il s'agit d'un sujet robuste, avec un bon état de nutrition, au facies légèrement vultueux et conjonctives injectées. La température matinale est de 37°5.

Le malade présente une torpeur et un état de somnolence manifestes. Il gémit fréquemment. Parfaitement conscient, il répond facilement à nos questions et raconte l'évolution de son affection. Bien orienté dans l'espace et le temps, il se fatigue vite pendant la conversation; l'articulation des mots a un caractère légèrement explosif et elle se fait avec une certaine difficulté à cause du trismus.

Signalons, à l'examen objectif, une raideur modérée de la nuque et du tronc. Le malade reste continuellement en décubitus dorsal; de temps en temps, il présente des contractions musculaires brusques, presque généralisées, et à ce moment son facies prend une expression angoissée.

Nerfs craniens. — Strabisme interne droit, avec paralysie du droit interne gauche qui provoque une diplopie. La motilité oculaire est cependant réduite et lente aussi dans les autres directions. Les pupilles sont égales, sans modifications manifestes des réflexes. Trismus intense qui permet à peine un léger écartement des mâchoires. Les mouvements de la mimique s'exécutent assez bien, mais avec un certain caractère de spasticité. Spasme palpébral bilatéral, surtout à gauche, où l'occlusion des paupières est permanente. A la face, on note une légère hyperesthésie. La déglutition est difficile; l'ingestion d'eau et d'aliments provoque un spasme modéré dans la musculature du cou et de la face et même une légère inhibition respiratoire. La simple vue de l'eau ou l'agitation de l'air devant son visage ne provoque aucun trouble.

Membres supérieurs. — Attitude de semiflexion avec hypertonie manifeste, surtout des fléchisseurs du bras. Les mouvements actifs se font avec difficulté surtout à cause de la contracture douloureuse. La force dynamométrique est réduite des deux côtés. Les réflexes tricipital et cubito-pronateur sont abolis. La sensibilité objective est conservée, mais on note une hyperalgésie à la pression des masses musculaires et des troncs nerveux.

Tronc et membres inférieurs. — Paraplégie totale, flasque (hypotonie intense, abolition des réflexes tendineux et cutanés, y compris les réflexes cutanés abdominaux).

Troubles sensitifs importants intéressant surtout la sensibilité thermique et s'étendant depuis la 10^e dorsale en bas.

La ponction lombaire montre un liquide louche contenant plus de 800 éléments, des lymphocytes, des cellules arachnoïdiennes et des polynucléaires, celles-ci altérées pour la plupart. Réaction de Pandy très fortement positive. Leucocytose sanguine : 17.000.

L'état général du malade empire progressivement. Dans la soirée du 30 septembre 1933, la température monte à 39°3; il y a en même temps une tachycardie, de l'irrégularité du pouls. La déglutition devient impossible à cause du spasme des muscles respiratoires. Le trismus, la contracture vertébrale et des extrémités sont aussi très intenses. Comme troubles surajoutés, notons un état d'agitation relativement modéré, avec délire de caractère onirique. Nos insistances répétées réussissent à réveiller le malade et à nos questions il répond d'une façon assez claire. Son délire est doux et se continue jusqu'à la mort qui survient le 1^{er} octobre avec phénomènes bulbaires (syncope cardio-respiratoire).

On prélève, à l'autopsie, le système nerveux et on fait ultérieurement l'examen histo-pathologique dont voici les résultats :

Cerveau. — On trouve des lésions importantes du côté des méninges et du parenchyme nerveux.

Le processus méningitique est généralisé, avec une prédominance manifeste au niveau de la base (région opto-pédunculaire, région hypothalamique, et surtout aux méninges entourant la corne d'Ammon). Sur la convexité, l'inflammation est plus accusée au fond des sillons qui séparent les circonvolutions. Il s'agit d'un processus infiltratif et hémorragique, parfois considérable, de caractère inflammatoire. Les vaisseaux sont dilatés et entourés de manchons cellulaires constitués par de nombreux polynucléaires, par des grandes cel-

lules mononuclées de type histiocytaire et de lymphocytes. Ces derniers sont moins abondants. Fréquemment des hématies extravasées forment par places de véritables nappes hémorragiques. Des méninges infiltrées partent de nombreux vaisseaux à manchons cellulaires et pénètrent dans le parenchyme sous-jacent. Plus importantes apparaissent les lésions propres du parenchyme cérébral qui sont diffuses, présentant tout de même des variations d'intensité et topographiques assez frappantes. Sur des coupes histologiques vertico-transversales passant par *les noyaux opto-striés* (fig. 1), on peut se rendre compte facilement de cette topographie. Les lésions parenchymateuses prédominent, en effet, dans les régions avoisinant les méninges infiltrées et dans le tissu nerveux entourant le 3^e ventricule et surtout l'infundibulum.

Au niveau du *corps calleux*, il n'y a qu'une légère réaction proliférative de

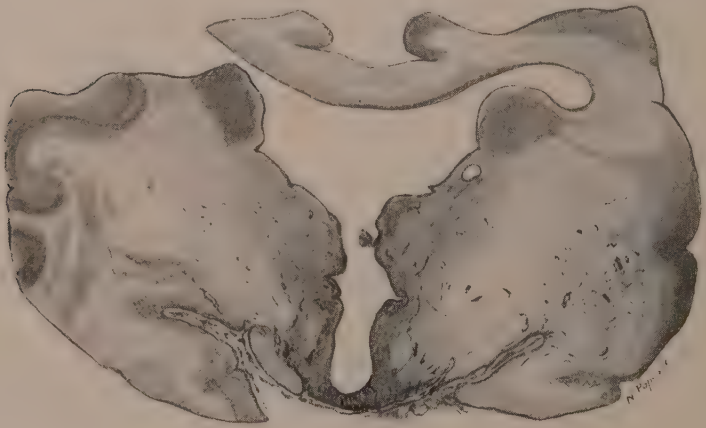


FIG. 1. — Sur le schéma on peut se rendre compte que le processus inflammatoire, très intense au niveau de la base infundibulo-tubérienne, diminue d'intensité à mesure qu'on s'éloigne en profondeur. La substance blanche est peu touchée.

l'élément glial autour des vaisseaux, qui présentent une discrète agglomération leucocytaire dans la gaine de Virchow.

Dans les deux piliers du trigone, au contraire, bien qu'il s'agisse d'une formation de substance blanche, les altérations infiltratives sont très importantes dans la portion avoisinant l'épendyme. Presque tous les vaisseaux présentent de gros manchons cellulaires dont certains sont constitués presque exclusivement par des polynucléaires, tandis que d'autres sont lymphocytaires. Des polynucléaires isolés ou même en trainées se trouvent aussi entre les vaisseaux infiltrés, en plein tissu interstitiel. Signalons, en outre, des réactions importantes du côté de la microglie et surtout de l'élément oligo- ou microglial. Il s'agit tout d'abord d'une prolifération intense autour des manchons cellulaires périvasculaires et même autour des capillaires et des pré-capillaires.

Il se constitue de la sorte de véritables foyers nodulaires plus ou moins

lâches. En outre, on voit des réactions régressives de l'élément microglial, même à distance des vaisseaux. On trouve, surtout à la périphérie des piliers trigonaux, des métamorphoses nombreuses de cet élément. Parmi les cellules d'aspect normal, on en remarque de plus volumineuses, ayant leur corps tuméfié, allongé, etc. Quelques-unes ont l'apparence de plasmocytes. Au niveau des plexus et de la toile choroïdienne, il y a une infiltration

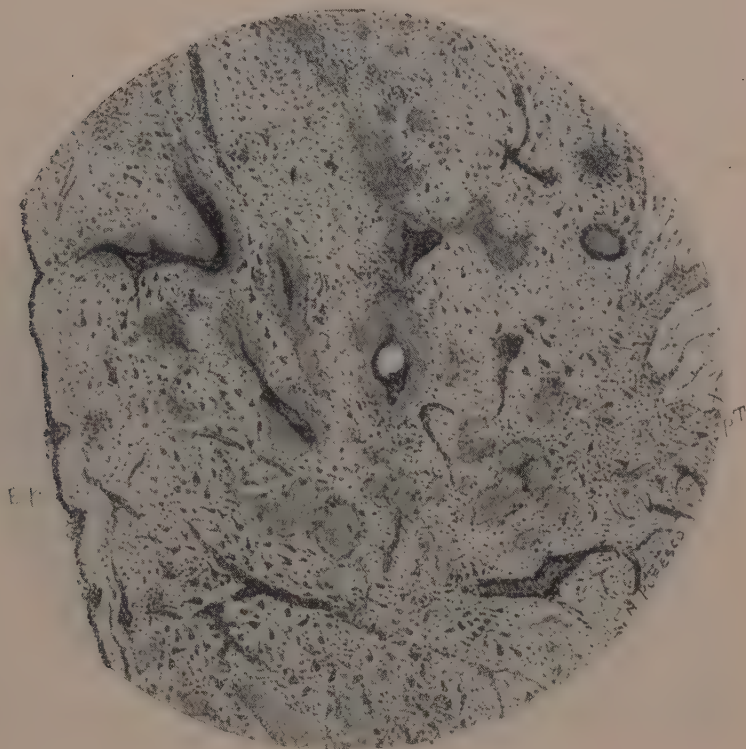


FIG. 2. — Coupe du tuber au niveau du pilier trigonal (*p. t.*). Processus inflammatoire considérable périvasculaire et interstitiel. Hémorragies annulaires autour de certains vaisseaux infiltrés.

Ep. : épendymite.

leucocytaire périveinulaire assez manifeste. Les cellules des plexus apparaissent tuméfiées.

Au niveau de la tête du *noyau caudé*, il n'y a qu'une inflammation discrète. Il y a des lésions assez intenses *dans le thalamus* et surtout dans les noyaux antérieurs et internes. Presque tous les vaisseaux sont entourés de manchons cellulaires, constitués par des lymphocytes et des polynucléaires avec prédominance des uns ou des autres. Même autour des capillaires, des amas leucocytaires forment parfois de véritables couronnes. Des polynucléaires libres se trouvent aussi dans le tissu interstitiel. La réaction

de l'élément glial est considérable ; il s'agit d'une hyperplasie diffuse des cellules microgliales à petit noyau, plus ou moins ovalaire ou allongé, parfois en bâtonnet. Par places, elles se disposent sous forme de nodules plus ou moins denses ayant quelquefois une relation étroite avec les capillaires et les précapillaires. Parfois on voit, au niveau de ces foyers, des cellules nerveuses plus ou moins altérées, étouffées par cette prolifération gliale. Plus rarement, on trouve des petits nodules microgliales siégeant autour d'une cellule nerveuse plus ou moins hyperchromique. Il y a des altérations infiltratives du même genre dans la substance grise sous-épendymaire.

Quant à l'*épendyme*, il présente une prolifération considérable de l'épithélium, dont les cellules, pour la plupart altérées, se colorent faiblement.

Dans le noyau externe du thalamus, l'inflammation est moins marquée, elle s'accroît cependant à mesure qu'on descend vers la région tubérienne.

En pleine substance grise juxta-épendymaire et dans le noyau périvericulaire, les lésions sont encore plus intenses (fig. 2). Presque tous les vaisseaux sont entourés de manchons lymphocytaires ; en outre, il se surajoute des hémorragies, parfois en nappe, parfois entourant la couronne de leucocytes. Par places, il y a même des plages hémorragiques interstitielles. Des réactions importantes existent du côté de l'élément glial. Signalons tout d'abord une prolifération diffuse, interstitielle, microgliale ; parmi les éléments gliaux, on trouve aussi des lymphocytes et des polynucléaires. En dehors de cette infiltration diffuse, de nombreuses formations nodulaires enclavent une ou plusieurs cellules nerveuses, profondément altérées. Ces lésions infiltratives se continuent aussi dans le champ trigonal. Des lésions considérables du même genre, se trouvent aussi dans le reste du tuber : noyau ventral, noyaux sus-optiques et surtout dans le mince plancher tubérien. La bandelette optique, la formation de Reichert et l'hippocampe offrent également des processus infiltratifs très intenses, surtout dans la région avoisinant les méninges. Dans le *noyau lenticulaire*, il existe une satellitose abondante, surtout autour des cellules pallidales et de gros manchons périvericulaires constitués presque exclusivement de lymphocytes, contrairement à la région tubérienne où prédominent les polynucléaires. On remarque, en outre, d'assez nombreuses cellules à hémosidérine et des infiltrations ferro-calciques des parois vasculaires. Dans la *capsule interne*, les lésions infiltratives sont légères et existent surtout dans son segment inférieur au niveau de l'hypothalamus, où il y a aussi des arborescences gliales.

Il y a, par conséquent, dans ce cas de rage humaine, des lésions considérables des méninges basales, avec des processus vasculo-infiltratifs dans le territoire adjacent. En même temps, existent des lésions intenses dans les zones avoisinant la paroi du III^e ventricule. Par conséquent, là où le tissu nerveux baigne dans le liquide céphalo-rachidien, soit ventriculaire, soit sous-arachnoidien, le processus inflammatoire atteint le plus haut degré. Cette topographie des lésions, que nous allons retrouver aussi au niveau du IV^e ventricule, se rapproche de celle observée dans la poliomyélite humaine, mais dans celle-ci les lésions sont moins intenses.

Au niveau de la *convexité* du cerveau (et surtout à la région frontale et pariétale), on trouve également des lésions inflammatoires importantes des méninges et du parenchyme. Il s'agit d'une méningite aiguë infiltrative (fig. 3) prédominant au fond des sillons. Ce processus est constitué par des lymphocytes, des polynucléaires, des histiocytes ; parfois, il prend un caractère hémorragique. Quant aux lésions parenchymateuses, elles sont variables : moins accusées au niveau de la 1^{re} et 2^e frontale, elles sont très intenses au

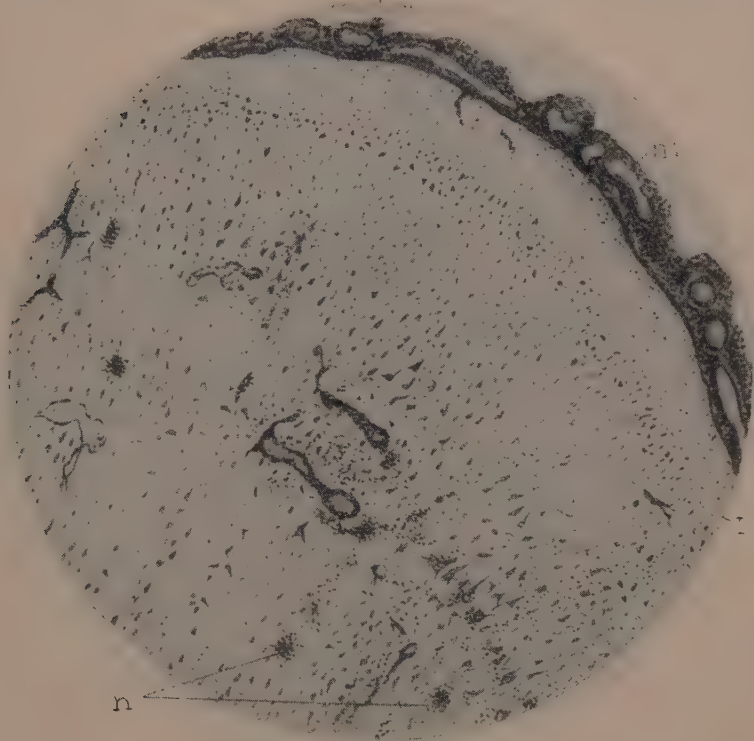


FIG. 3. — Coupe au niveau de la pariétale ascendante. On y voit un intense processus méningitique (*m*) et dans le parenchyme des infiltrations péri-vasculaires et des nodules (*n*) interstitiels surtout dans les couches profondes.

niveau de la frontale et pariétale ascendante et surtout dans le lobe paracentral. Signalons tout d'abord une hyperémie considérable de la substance grise. On trouve ensuite des infiltrations péri-vasculaires qui intéressent les vaisseaux de tous les calibres, variables comme constitution et intensité. Autour de la plupart des capillaires et des précapillaires, on remarque des couronnes de polynucléaires avec de rares lymphocytes. Parfois, les amas leucocytaires sont très discrets. L'endothélium des vaisseaux est nettement tuméfié. La gaine de Virchow-Robin contient quelquefois des héma-

ties. Quelquefois, les vaisseaux n'offrent que de rares leucocytes dans la gaine de Virchow-Robin, mais en échange autour de celle-ci il y a une zone plus ou moins limitée de prolifération de la macro et de la microglie. Parmi les éléments gliaux, on en trouve quelques-uns offrant des phénomènes de clasmotodendrose. Ces proliférations gliales périvasculaires sont très fréquentes et parfois, à la suite de la fusion des champs voisins, on a l'impression d'une infiltration diffuse, en nappe.

Signalons que, même dans le parenchyme nerveux, entre les vaisseaux à

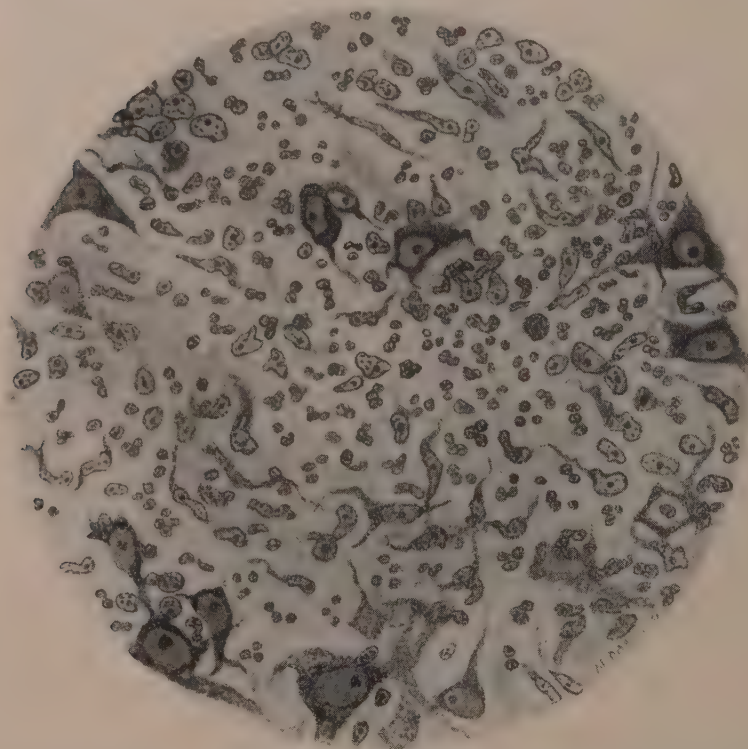


FIG. 4. — Pariétale ascendante. Amas et infiltrations par des polynucléaires neutrophiles dans les couches profondes du cortex. Prolifération diffuse microgliale et altérations variées des cellules nerveuses.

manchons leucocytaires, au niveau de la frontale et de la pariétale ascendante et surtout dans les premières couches, il y a des polynucléaires isolés, épars dans le parenchyme (fig. 4) et formant parfois des petits amas. Très rarement nous avons trouvé des formations nodulaires tout à fait particulières sur le trajet de certains capillaires. Il s'agit de véritables *volutes* capillaires au niveau desquelles on voit un grand nombre de grandes cellules claires à protoplasma légèrement basophile, à noyau plus riche en chromatine; cellules qui ne sont autre chose que des éléments endothéliaux

qui ont subi un gonflement considérable. Parmi ces cellules, on remarque quelques rares polynucléaires à noyau pycnotique et quelques lymphocytes. Ces nodules capillaires ne paraissent pas avoir été signalés jusqu'à présent. Ils sont d'ailleurs exceptionnels. Des altérations importantes se trouvent aussi du côté des cellules nerveuses. Il y a tout d'abord, surtout au niveau du lobe paracentral, une satellitose manifeste de la plupart des cellules. Ces éléments paraissent avoir pénétré dans l'espace de Head. Parfois, ce processus de satellitose atteint un haut degré aboutissant à la for-

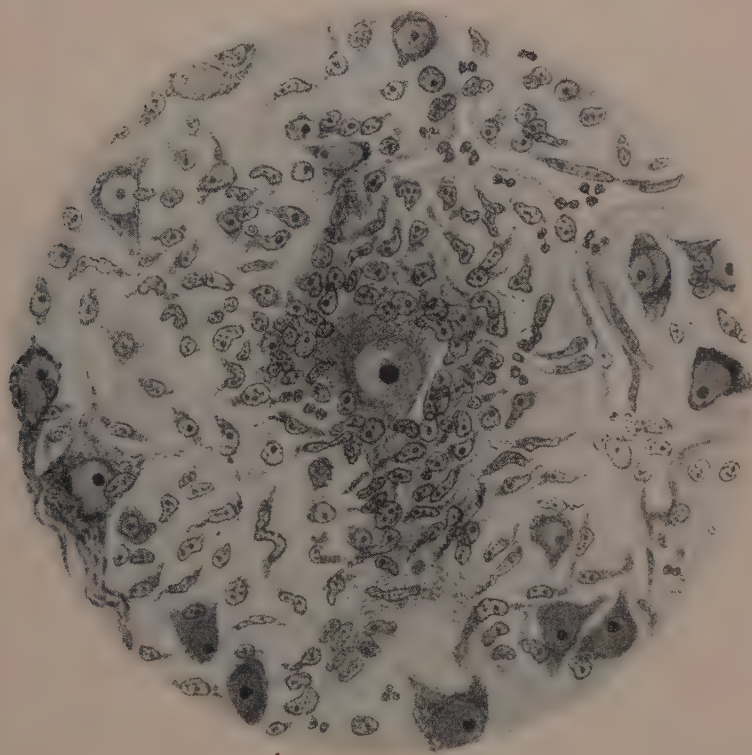


FIG. 5. — Au centre de la figure un nodule de Babes constitué par un amas d'éléments microglixiaux disposés autour d'une cellule nerveuse de la troisième couche de la circonvolution frontale ascendante. La cellule nerveuse est assez bien conservée.

mation de nodules neuronophagiques (fig. 5) comme ceux décrits par V. Babès. On peut dire qu'il y a une transition entre cette satellitose et la formation des nodules de Babès. Dans leur expression la plus caractéristique ces nodules offrent une abondante agglomération de cellules microgliales, surtout en bâtonnet, autour d'une cellule nerveuse plus ou moins altérée et quelques polynucléaires. Quelquefois, on voit de telles formations nodulaires plus ou moins lâches, englobant plusieurs cellules nerveuses. Celles-ci présentent

des altérations manifestes : nucléoles hyperchromiques, cytoplasma vacuolaire à contour irrégulier, flou.

Dans les deuxième et troisième circonvolutions frontales, on trouve seulement d'une façon exceptionnelle des nodules de Babès.

Au niveau de la substance blanche de la convexité du cerveau, surtout celle correspondant aux circonvolutions du manteau gris, il y a une prolifération diffuse gliale et autour de certains vaisseaux des manchons lymphocytaires contenant aussi quelques rares polynucléaires et des cellules à hémossiderine.

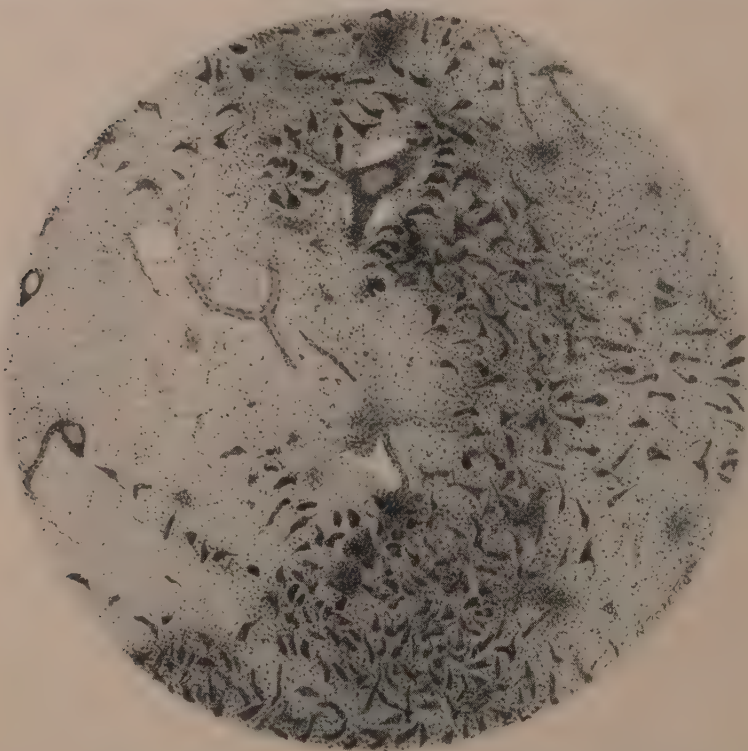


FIG. 6. — Coupe au niveau du *locus niger*, montrant, en dehors d'une infiltration périvasculaire, de nombreux nodules de Babès englobant une ou plusieurs cellules nerveuses.

Les *péduncules cérébraux* offrent également des altérations infiltratives considérables. Tout d'abord un intense processus méningitique lymphocytaire. Quant aux lésions parenchymateuses elles sont diffuses, intéressant tout le péduncule cérébral. Un examen d'ensemble nous montre qu'il y a une certaine différence entre le caractère et l'intensité des lésions au niveau des portions centrales et des régions périphériques. Les altérations sont maximales au niveau des tubercules quadrijumeaux. On y voit de nombreux manchons périvasculaires constitués de lymphocytes (pas de plasmocytes

et situés surtout autour des vaisseaux ayant un calibre plus important. Remarquons en outre des hémorragies multiples et surtout une infiltration diffuse tissulaire d'origine microgliale, avec de fréquentes formations nodulaires. Constitués surtout par des cellules en bâtonnet, ces nodules sont de dimensions variables et ils englobent en général une ou plusieurs cellules nerveuses qui présentent des altérations marquées. Ces lésions infiltratives diffuses et périvasculaires se continuent aussi dans la zone située autour de l'aqueduc. Au niveau du pied des pédoncules, on trouve surtout des man-

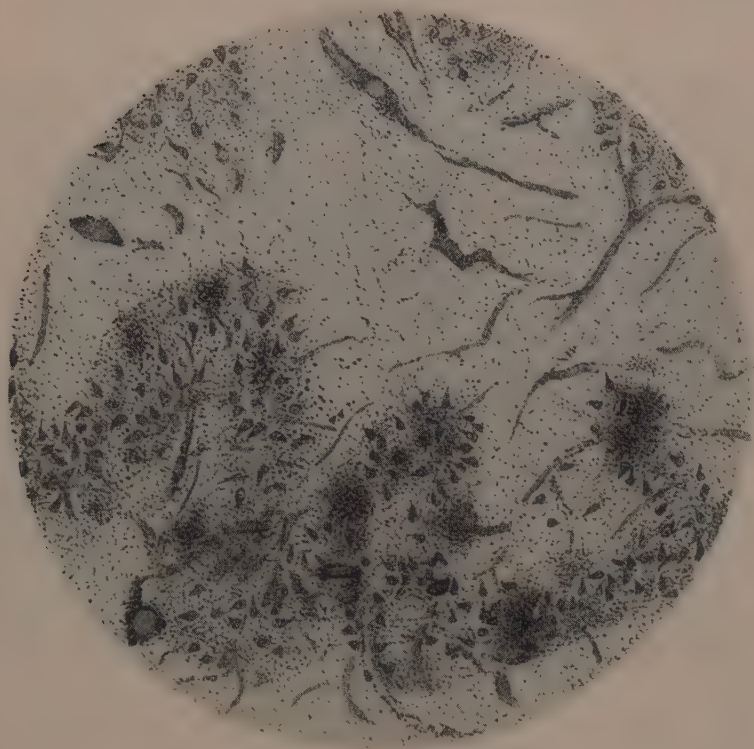


FIG. 7. — Coupe d'une olive bulbaire présentant de nombreux nodules siégeant dans la substance grise. Dans la substance blanche (hile) des processus infiltratifs périvasculaires.

chons périvasculaires venant des méninges, constitués par des lymphocytes de rares polynucléaires et des cellules d'hemosidérine et d'exceptionnels plasmocytes. Dans la formation réticulée du *locus niger* (fig. 6), voire même entre certains îlots de la formation compacte, les manchons périvasculaires deviennent plus denses et on voit aussi des processus réactionnels de la microglie interstitielle et des éléments satellites des neurones. En effet, il existe une satellitose manifeste au niveau de la plupart des cellules nigé-riennes. Par places, il se constitue de vrais nodules qui étouffent les cellules, nerveuses englobées. On distingue du côté de ces cellules des altérations

marquées aboutissant à une désintégration totale. Ces formations nodulaires péricellulaires sont constituées surtout par des cellules en bâtonnet. On y voit cependant quelques rares lymphocytes et, d'une façon exceptionnelle, des polynucléaires. A la périphérie des nodules, il y a des éléments à hémossidé-rine, et autour de certains capillaires on remarque une légère désintégration mélanique comme dans l'encéphalite léthargique, mais beaucoup moins manifeste que dans cette dernière affection.

Au niveau de la portion centrale du pédoncule (*noyau rouge et noyau intersittiel*) l'aspect des lésions est un peu différent. Autour des vaisseaux à calibre plus grand, on trouve encore des manchons cellulaires, mais autour des

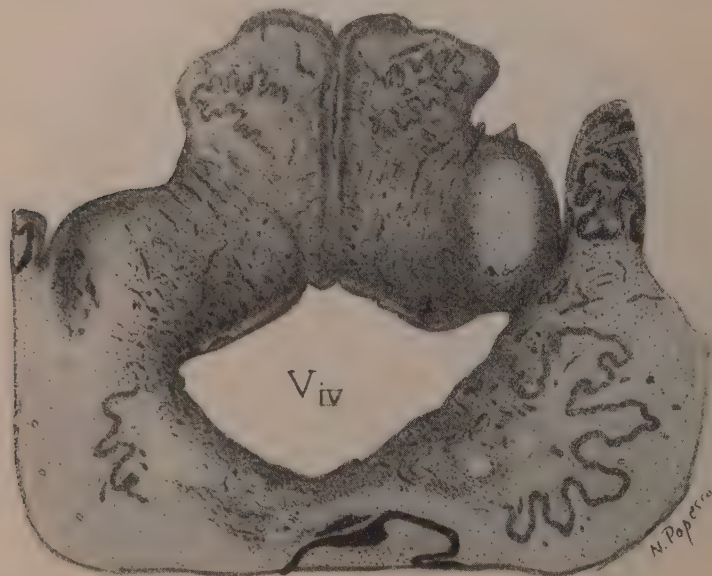


Fig. 7 bis. — Le processus inflammatoire atteint une forte intensité autour des parois du 4^e ventricule démontrant que la propagation du processus infectieux se fait aussi par l'intermédiaire du liquide céphalo-rachidien, comme dans la poliomyélite (fig. demi-schématique).

capillaires il y a seulement une réaction proliférative gliale sans infiltration leucocytaire, constituant de véritables foyers lâches, confluents par places. Il est possible que ce caractère de l'inflammation, voire la réaction intense de l'élément microglial avec légers processus infiltratifs leucocytaires indique une atteinte moins marquée de ces régions, par le virus et la toxine.

Protubérance. Bulbe. Cervelet. — On y trouve également des altérations considérables. Signalons tout d'abord un processus méningitique intense constitué par des lymphocytes et exceptionnellement des polyblastes et des polynucléaires et par places des hémorragies. Dans le parenchyme, on trouve des manchons périvasculaires et des infiltrations diffuses interstitielles, avec formations nodulaires. Ces processus prédominent au niveau de la substance

grise. Des manchons presque exclusivement lymphocytaires se trouvent surtout autour des vaisseaux de certains calibres. Autour des capillaires, il y a des zones d'hyperplasie microgliale confluant parfois et constituant même des nodules. De véritables nodules de Babès, analogues à ceux constatés dans les autres portions du névraxe, siègent surtout dans les olives (fig. 7) et au niveau du plancher bulbaire (fig. 8 et 8 bis). Ces nodules pseudo-neurophagiques sont formés presque exclusivement d'éléments microgliaux et englobent une ou plusieurs cellules nerveuses plus ou moins altérées. D'ailleurs, en dehors de ces formations, presque toutes les cellules nerveuses ont une satellitose intense.

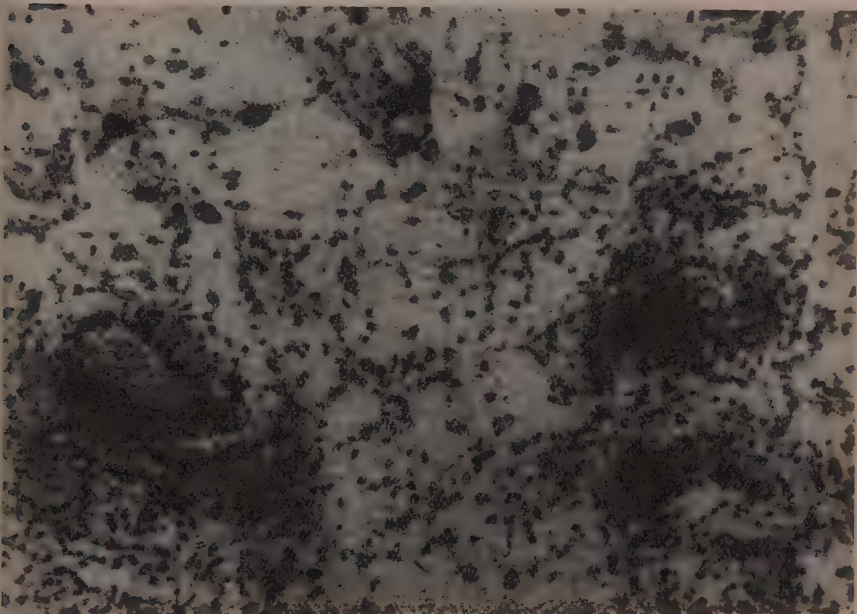


FIG. 8. — Plancher du bulbe. On y voit à gauche un gros manchon périvasculaire avec réaction gliale (macro et microgliale). A droite deux nodules inflammatoires interstitiels.

Au niveau du *cervelet*, il existe des altérations infiltratives de même type mais moins importantes que dans le bulbe, sauf à la région périventriculaire (noyau du toit, noyau dentelé, etc.) où les processus infiltratifs périvasculaires interstitiels et nodulaires sont très intenses (fig. 7 bis).

Ganglions spinaux. — On y note des lésions également considérables. Signalons tout d'abord un processus interstitiel, presque exclusivement lymphocytaire. En outre, les cellules nerveuses subissent, par suite de l'action toxique, des altérations variables, avec multiplication des cellules capsulaires aboutissant à la destruction totale du neurone et à la formation d'un nodule résiduel. Dans ces nodules résiduels, presque un tiers de la totalité des cellules nerveuses sont remplacées par eux. On y trouve des

cellules claires à noyau excentrique, à cytoplasme augmenté, cellules d'aspect macrophagique qui se différencient nettement des cellules capsulaires. Des altérations infiltratives périvasculaires et interstitielles se retrouvent aussi dans les racines nerveuses. Par la coloration avec le scharlach-hématoxyline, quelques-uns des éléments macrophagiques du nodule résiduel offrent de fines inclusions lipoidiques. Par l'imprégnation au Bielschowsky, on remarque des altérations variables du cylindraxe des fibres ganglionnaires. Le réticulum fibrillaire des cellules nerveuses présente de nombreuses altérations dont les plus caractéristiques sont l'épaississement

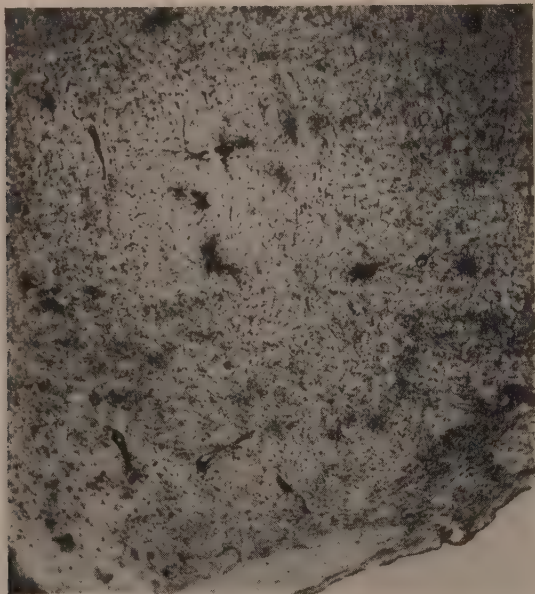


FIG. 8 bis. — Plancher du bulbe. On y voit sur un fond d'infiltration diffuse, de nombreuses formations nodulaires.

neuro-fibrillaire aboutissant à la formation des images comme dans la cellule d'Alzheimer. Des lésions plus intenses, aboutissant à une destruction de la plupart des cellules nerveuses se retrouvent surtout au niveau des ganglions lombo-sacrés.

Moelle cervicale et dorsale supérieure. — On trouve des lésions importantes surtout au niveau du renflement cervico-dorsal. Tout d'abord un processus infiltratif méningitique (constitué par des lymphocytes, de rares polyblastes et d'exceptionnels plasmocytes, avec, parfois, des hémorragies). Ce processus prédomine au niveau du sillon antérieur. Dans la substance blanche, il y a une intense hyperhémie manifeste des septa et des vaisseaux, surtout dans la zone avoisinant la substance grise. Les manchons vasculaires sont presque exclusivement lymphocytaires (on y voit seulement quelques rares polynucléaires à noyau pycnotique et pas de plasmocytes). Autour de

capillaires de la même zone, il y a une prolifération gliale et surtout microgliale aboutissant parfois à la formation de véritables nodules. On y trouve à peine quelques leucocytes. Dans la substance grise, les altérations inflammatoires sont considérables.

En dehors des nombreux manchons lymphocytaires (avec de légères hémorragies), on remarque une abondante infiltration interstitielle microgliale, des foyers nodulaires oligo- et microgliaux péri-capillaires et même

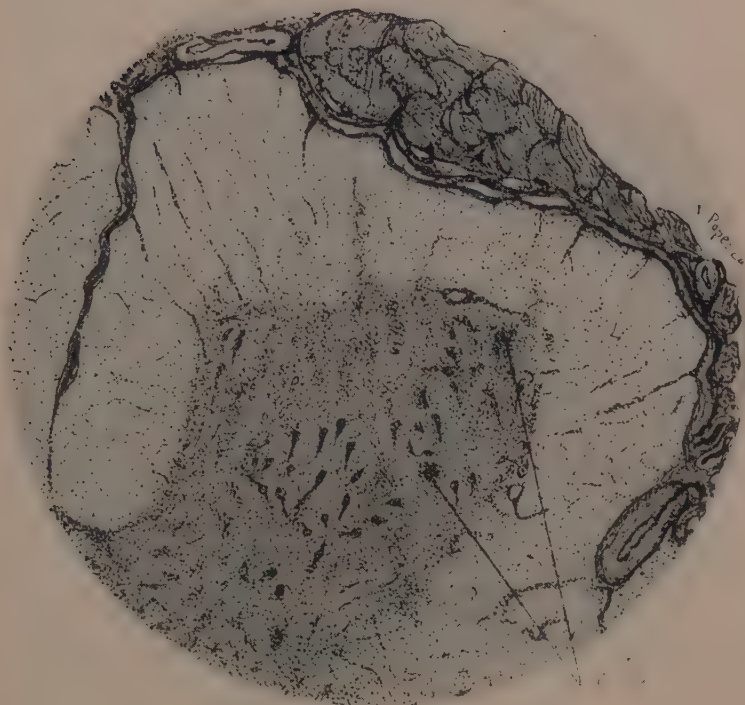


FIG. 9. — Corne antérieure de la moelle lombaire. Infiltration du septum antérieur et des méninges. Prolifération diffuse microgliale avec nodules de Babès (*n. B.*) Raréfaction des cellules nerveuses.

des nodules plus ou moins denses, constitués par des cellules en bâtonnet et englobant par-ci par-là, des cellules nerveuses en état de désintégration. Ces nodules ressemblent à première vue à ceux de la poliomyélite, mais ils ne sont pas strictement péricellulaires, comme dans cette maladie. Les cellules nerveuses et surtout celles de la corne antérieure, même celles qui ne sont pas englobées dans le nodule, présentent des lésions avancées. Signalons tout d'abord qu'un grand nombre ont disparu. D'autres sont réduites à l'état d'ombres cellulaires ou présentent une achromatose totale. La satellitose est d'ailleurs très manifeste.

A la partie inférieure de la moelle dorsale les lésions prennent un caractère plutôt dégénératif. Les processus infiltratifs diminuent d'intensité, mais toutefois ils restent assez manifestes au niveau des vaisseaux. La moelle se colore beaucoup moins. Dans la substance grise et surtout dans la substance blanche, il existe une infiltration œdémateuse, surtout dans la moitié postérieure qui dissocie par places les fibres nerveuses. Ces fibres se teintent mal, même par le scharlach. Par suite de cet œdème, la moelle apparaît déformée, irrégulière sur les coupes transversales.

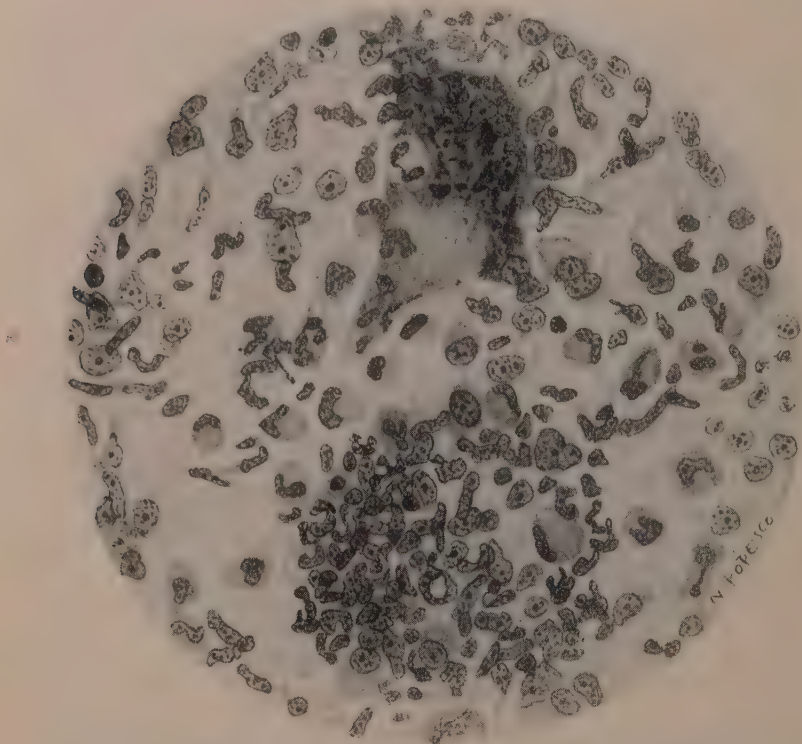


FIG. 10. — Nodule de Babès dans la corne antérieure de la moelle lombaire se substituant à une cellule nerveuse. Il est constitué par de nombreux éléments microgliaux (en bâtonnet), des corps granuleux et de rares polynucléaires. A remarquer la ressemblance du nodule de Babès avec le nodule poliomyélitique.

Au niveau de la région lombo-sacrée ce caractère d'infiltration œdémateuse, de myélite dégénérative, se maintient presque exclusivement dans la moitié postérieure, qui, à la suite des manœuvres histologiques, se désagrège, de sorte que sur les coupes transversales la moelle ne conserve que sa partie antérieure. Celle-ci et surtout la substance grise présentent des processus

infiltratifs considérables, avec raréfaction des cellules nerveuses et présence de nombreuses formations nodulaires (fig. 9 et 10).

Dans les *nerfs périphériques* des membres, nous n'avons pas trouvé de lésions.

En résumé, il s'agit dans ce cas d'un sujet mordu par un chien enragé au niveau du pouce gauche. Le quatrième jour à peine, il commence un traitement prophylactique, qui est continué pendant treize jours, c'est-à-dire un traitement complet. Avec le même vaccin, on a fait des injections préventives à un grand nombre de mordus sans aucun accident. Chez notre sujet, au contraire, il s'installe, le treizième jour, une paraplégie qui évolue sous la forme d'un syndrome de Landry grave, aboutissant à la mort par syncope bulbaire, le sixième jour après les premiers troubles.

Pour pouvoir préciser la nature de cette maladie post vaccinale grave, nous avons fait deux séries de recherches : l'examen histo-pathologique du nevraxe et des inoculations au lapin avec de l'émulsion de substance cérébrale prélevée à l'autopsie.

L'étude histo-pathologique nous a montré, comme nous l'avons vu, une névraxite infiltrative considérable et généralisée avec formation de nodules de Babès, comme dans les cas de rage. La recherche des corps de Negri dans les coupes a été négative.

Les recherches expérimentales furent seules décisives pour élucider la nature de la maladie. Des inoculations pratiquées à l'Institut Babès par M. le Dr D. Ionesco — et que nous allons relater plus loin — nous ont montré qu'il s'agissait d'un cas d'infection rabique. Avant d'exposer le résultat de ces recherches, nous allons exposer quelques *considérations sur les lésions histo-pathologiques nerveuses dans la rage humaine.*

Le tableau anatomo-pathologique du système nerveux dans la rage humaine est assez bien connu. Les recherches anciennes de Babès [1] et de Schaffer avaient démontré le caractère diffus de l'inflammation. Schaffer a insisté sur la présence de processus myélitiques, soit dégénératifs, soit infiltratifs, localisés surtout dans les cornes antérieures et prédominant du côté de la morsure. Babès a apporté une description plus courte de ces altérations infiltratives. Dans les différents cas de rage humaine examinés par lui, il a noté l'existence de lésions infiltratives inflammatoires et surtout la présence de

véritables nodules cellulaires disposés autour des cellules nerveuses du bulbe (surtout au niveau du pneumogastrique et de l'hypoglosse) et des cornes antérieures de la moelle. Dans des cas plus rares, il y avait des nodules autour des cellules de la corne d'Ammon. Pour Babès ces formations se différenciaient des nodules trouvés dans la poliomyélite, par leur constitution lymphoïde et par l'intégrité relative de la cellule nerveuse. Dans la poliomyélite, les neurones sont détruits et, parmi les cellules, il y a surtout des polynucléaires.

Nélis et Van Gehuchten avaient soutenu autrefois que la lésion la plus caractéristique de la rage c'est la présence de nodules inflammatoires dans les ganglions spinaux. Ces auteurs faisaient remarquer que ces lésions ne sont pas constantes bien qu'elles se retrouvent beaucoup plus fréquemment que les lésions nodulaires de la moelle et du bulbe. C'est d'ailleurs le motif pour lequel, ultérieurement, Babès a insisté sur le fait que, dans la rage de rue, c'est seulement la coexistence de nodules dans les ganglions spinaux, le bulbe et l'axe médullaire, qui doit être considérée comme caractéristique de la rage.

Golgi, Cajal et l'un de nous (Marinesco) ont insisté ensuite sur la présence, dans cette neuro-infection, d'autres modifications importantes et spécialement, ils ont signalé les altérations particulières des neuro-fibrilles et surtout leur épaississement considérable.

W. Spielmeyer [2], dans sa fondamentale histo-pathologie du système nerveux, fait la remarque que dans la rage on trouve, auprès de lésions inflammatoires diffuses, des proliférations en foyer.

I. Shükry et H. Spatz [3] ont signalé, dans les cas de rage humaine, l'existence de lésions infiltratives non seulement au niveau du bulbe et de la moelle, mais aussi dans les pédoncules cérébraux et surtout dans le *locus niger*.

Nous avons examiné le système nerveux de plusieurs sujets morts d'une infection rabique, après une incubation plus ou moins longue. Dans tous ces cas, il y avait des lésions infiltratives prédominantes dans les ganglions spinaux et sympathiques et dans la substance grise de la moelle — un peu moins dans la substance blanche — correspondant au côté de la morsure. Les nerfs périphériques offraient également des

processus infiltratifs, mais presque exclusivement ceux intéressés par la morsure. On trouvait, par conséquent, une véritable névrite ascendante qu'on pouvait, d'après la présence des traces histo-pathologiques, poursuivre dans son étape périphérique, ganglio-radriculaire et médullaire. De tels faits furent relatés par nous, dans le rapport sur la pathologie de certaines encéphalo-myérites à ultravirus, présenté au Congrès de Berne en 1931 [4], où nous avons insisté sur le fait qu'on pouvait de la sorte poursuivre le cheminement du virus rabique vers le névraxe.

La localisation des lésions inflammatoires dans le névraxe, dans la rage humaine, n'est pas cependant limitée à la *zone de projection centrale* (zone où arrive le virus tout d'abord), c'est-à-dire au niveau du bulbe ou de la moelle. Comme Spatz et Shükry, qui l'ont signalé les premiers [3], nous avons également constaté plusieurs fois des lésions infiltratives périvasculaires et des nodules périvasculaires et surtout péricellulaires (nodules de Babès) de nature oligo et surtout microgliale au niveau des pédoncules et de la région tubérienne, spécialement dans le *locus niger*. L'existence de gros processus infiltratifs au niveau du 3^e ventricule et dans la substance grise entourant les 3^e et 4^e ventricules nous montrent que le courant liquidien, surtout ventriculaire, doit avoir une importance marquée pour la propagation du virus de la rage, le long du névraxe. Dans tous les cas de rage humaine, examinés antérieurement par nous, les lésions pédonculo-tubériennes du système nerveux central étaient cependant, quoique manifestes, assez modérées; quant au reste du cerveau, il y avait à peine quelques infiltrations périvasculaires insignifiantes dans le cortex, voire même dans les méninges des circonvolutions basales, tandis que les noyaux opto-striés en étaient exempts. Le tableau histo-pathologique trouvé par nous dans le cas présent est tout à fait différent par l'existence de lésions infiltratives considérables intéressant même les circonvolutions de la convexité. Ce tableau rappelle certains cas de paralysie infantile de type ascendant dans lesquels, comme nous l'avons montré dans l'épidémie roumaine de 1927, les lésions atteignent un haut degré d'intensité, non seulement au niveau du tronc cérébral, mais aussi dans la région infundibulo-tubérienne. Comme dans celle-ci

également, il y avait aussi dans notre cas des processus infiltratifs au niveau des méninges, c'est-à-dire toujours dans les formations en relation avec le liquide céphalo-rachidien.

Des tableaux histo-pathologiques analogues se trouvent aussi — comme le remarque Spatz [5] — dans la maladie de Borna et dans l'encéphalite léthargique, où les lésions infiltratives sont presque exclusivement localisées dans la substance grise du tronc cérébral.

La multiplication des cas de neuro-infections primitives et les examens histo-pathologiques de plus en plus complets qu'on a fait les derniers temps nous ont permis de voir qu'actuellement il est difficile, dans certains cas, d'affirmer qu'il s'agit d'une maladie ou d'une autre, d'après le simple examen de lésions aiguës. La difficulté est manifeste surtout dans les polio-encéphalites disséminées (« fleckformige » d'après Spatz) avec prédominance dans le tronc cérébral. Certainement qu'une prédominance des lésions dans les ganglions spinaux fait penser tout d'abord à la rage, comme une prédominance des lésions au niveau des cornes antérieures fait supposer en général une poliomyélite, mais la certitude, on ne l'a pas que si on trouve des corpuscules de Negri (pour la rage), ou si on recourt à des expériences d'inoculation dans le cas de la poliomyélite ou dans la rage.

Le nodule qu'on trouve dans la moelle des poliomyélitiques est pour nous assez difficile à être différencié du nodule rabique (de Babès), surtout dans des cas analogues à celui décrit par nous dans ce travail, où on le trouve constitué non seulement d'éléments microgliaux (les anciennes cellules dénommées « lymphoïdes » par certains auteurs), mais aussi de polynucléaires. D'autre part, même dans la paralysie infantile, on peut trouver une myélite infiltrative diffuse, comme dans la rage (Marinesco, Manicatide et Draganesco) [6].

La distinction entre les lésions du tronc cérébral dans notre cas de rage aiguë et ceux de poliomyélite à forme mésentéphalique est encore plus difficile. Les mêmes processus diffus micro-et oligodendrogliaux, les mêmes infiltrations périvasculaires, lymphocytaires, voire les mêmes formations nodulaires, se retrouvent dans les deux maladies (au moins dans des cas ayant des lésions considérables).

Ces restrictions faites, nous devons souscrire à l'opinion de

Pette [7], suivant laquelle la poliomyélite, l'encéphalite léthargique, la rage et la maladie de Bornà — qui sont des polio-encéphalites ou des polio-encéphalomyélites authentiques — représentent, malgré l'analogie parfois très avancée de leur substratum morphologique, des unités anatomiques distinctes et reconnaissables microscopiquement. Les tableaux histo-pathologiques distincts en général sont, comme s'exprime Pette, dus à l'action directe du virus sur le tissu nerveux et à son neurotropisme plus accentué pour tel ou tel système ou portion du névraxe. Mais, comme nous l'avons dit, nous sommes souvent dans l'impossibilité de tirer des conclusions étiologiques fermes, seulement d'après le tableau histo-pathologique des infections neurotropes.

De ce point de vue, nous avons considéré d'un réel intérêt d'insister sur le tableau anatomique trouvé dans notre cas de rage aiguë. L'intensité et la diffusion des lésions névraxiques rencontrées dans ce cas, très peu comparable aux cas habituels de rage humaine, trouvent leur explication dans les qualités particulières de l'agent causal, qui s'est montré d'une virulence extrême, comme nous l'avons démontré par quelques *recherches biologiques*.

Ces recherches furent pratiquées à l'Institut Babès, par M. le Dr Ionesco.

1° *Inoculations sub-durales*, à 2 lapins, de « virus O » (émulsion de tissu nerveux). Les 2 animaux font des paralysies le troisième jour et succombent deux jours plus tard, avec paralysie totale. Par conséquent, cinq jours de survie. On fait desensemencements sur les milieux habituels, du cœur et du cerveau de ces animaux. Ils restent stériles.

2° *Des inoculations de passage* du cerveau des animaux précédents sont faites sous la dure-mère de 4 lapins, séparément. Les animaux se paralysent le troisième jour et succombent après un ou deux jours. Les cultures sur milieux ordinaires restent stériles.

3° 2 cobayes inoculés également par voie sub-durale avec le « virus O » se paralysent le quatrième jour et succombent vingt-quatre heures plus tard. Les cultures restent stériles.

4° 2 lapins sont inoculés avec le « virus O » par *scarification cornéenne*. Inoculation le 6 octobre 1933. Aucune réaction cornéenne sauf une légère hyperémie traumatique qui disparaît vingt-quatre heures après. Les animaux sont paralysés le 12 octobre, c'est-à-dire après six jours.

Ces expériences nous démontrent d'une façon manifeste que le système nerveux central de notre sujet O, inoculé sous la

dure-mère du lapin et du cobaye, contenait un virus qui provoquait une paralysie des membres le troisième jour et la mort après cinq, voire six jours. Les inoculations de passage donnaient la mort d'une façon constante, après quatre à cinq jours. Les inoculations cornéennes retardaient de deux jours l'apparition des paralysies. Le virus se conservait dans la glycérine et pouvait provoquer les mêmes effets même après un certain intervalle.

Le deuxième point qui restait à préciser était de déterminer la nature du virus isolé chez O. S'agissait-il du virus fixe de vaccination même ou d'un virus de rue renforcé, du type Coritschoner, sur lequel notre traitement préventif n'a eu aucune influence et qui a provoqué l'éclosion de la rage. Le virus fixe qu'on emploie à l'Institut Babès pour l'inoculation sous-durale au lapin entraîne la mort en sept jours. Notre virus agit après une incubation plus courte, cinq à six jours, à la première inoculation sub-durale, quatre à cinq jours dans les expériences de passage. Par conséquent, il y a une certaine différence et non pas identité entre les deux virus. Pour avoir un argument de plus, nous avons examiné le cerveau des lapins inoculés avec du virus vaccinal et du virus O, en vue d'établir l'existence éventuelle de particularités histologiques entre les lésions expérimentales produites par les deux virus.

Sur 3 lapins inoculés dans le cerveau avec du virus O dans un seul cas, on constatait des lésions infiltratives plus importantes au niveau des méninges basales et du tronc cérébral, avec des manchons vasculaires dans l'hippocampe, les pédoncules cérébraux et dans le plancher du 4^e ventricule. Chez les 2 autres animaux il y avait seulement de légers processus infiltratifs.

Sur 3 autres lapins, inoculés par du virus fixe, nous trouvons sur un seul des lésions considérables dans le tronc cérébral et les hémisphères et surtout dans l'hémisphère ponctionné. Il y avait tout d'abord une méningite intense à nombreux lymphocytes et hématies et d'assez rares polynucléaires, prédominant au niveau du bulbe, des pédoncules cérébraux et surtout dans la région de l'hippocampe. Des méninges infiltrées vers le parenchyme nerveux sous-jacent, on voit s'irradier des vaisseaux ayant des manchons lymphocytaires plus ou moins développés. Dans ce cas nous avons trouvé, en même temps, un processus considérable épendymaire. L'épendyme ventriculaire de l'hémisphère intéressé par l'aiguille d'inoculation est proliféré et dans le tissu sous-épendymaire on voit une importante réaction gliale et microgliale et de nombreux vaisseaux ayant des infiltrations cellulaires (presque exclusivement des lymphocytes).

Le virus fixe, par conséquent, a provoqué dans une de nos expériences des lésions infiltratives plus marquées que le virus isolé dans notre cas (1). Il faut remarquer néanmoins que ni le virus fixe, ni le virus O, n'avaient provoqué de lésions infiltratives constantes, ce qui montrerait que chez les animaux inoculés — et probablement il s'agit d'un phénomène identique chez l'homme — le facteur constitutionnel doit jouer un rôle.

De sorte que, d'après l'aspect des lésions trouvées par nous, dans le cerveau de ces animaux inoculés, on ne peut pas tirer une conclusion ferme sur la différence entre les deux virus; cependant, le virus fixe a provoqué des réactions inflammatoires plus importantes, au moins dans un cas.

La différenciation nette entre les deux virus aurait été pour nous capitale en vue de préciser si la rage apparue dans notre cas, après la fin du traitement, représente une rage de laboratoire ou une rage de rue par virus renforcé.

Nous avons pensé, avant l'épreuve biologique, qu'il pouvait s'agir d'une encéphalo-myélite post-vaccino-rabique. On sait que dans ces cas les symptômes apparaissent dans les quinze jours qui suivent l'inoculation et que l'hydrophobie (comme chez notre sujet) manque. L'affection serait due à un virus neurotrope introduit avec l'émulsion vaccinale. On a même envisagé ici la possibilité d'un virus rabique atténué.

Mais dans notre cas le résultat des recherches biologiques a démontré l'existence certaine d'une rage produite par un virus très actif.

Quelle peut être la signification de cette infection rabique apparue chez notre malade au cours du traitement préventif?

Remlinger [8] dans son important rapport sur les paralysies du traitement antirabique, n'admet pas, dans le groupe de ces accidents paralytiques, les cas où il s'agit d'une rage démontrée par des inoculations positives chez le lapin.

Pour lui, ces accidents doivent être mis sur le compte ou d'erreurs grossières de manipulation dans les laboratoires, ou d'une application trop hâtive de moelles virulentes. Dans notre cas nous ne croyons pas qu'il s'agit ni de l'une ni de l'autre

(1) Nous avons constaté plusieurs fois, même chez des lapins inoculés avec du virus fixe, des lésions histo-pathologiques beaucoup plus importantes que celles qu'on décrit d'habitude

éventualité. En effet, avec le même virus-vaccin on a fait en même temps des inoculations préventives à un grand nombre de malades, avec la même technique et en employant les mêmes doses, sans avoir enregistré le moindre accident. Cependant nous ne pouvons nier le fait qu'au moment où notre malade a reçu les doses virulentes, il se trouvait dans un état d'anergie (probablement par suite de sa constitution) qui a rendu possible l'apparition chez lui d'une infection rabique.

Les autres sujets auxquels on a appliqué le traitement en même temps étaient complètement préparés à ce moment pour recevoir sans péril la dose virulente.

La deuxième possibilité que nous avons envisagée est celle de l'existence chez notre malade d'un virus de rue renforcé, du type Koritschoner, introduit dans l'organisme lors de la morsure et sur lequel le traitement préventif n'a pu avoir aucune influence.

Koritschoner a décrit un virus de rue qui présentait une incubation constante de quatre à cinq jours chez le lapin et un manque absolu de corps de Negri. V. Babès et d'autres auteurs (Calabresse, Remlinger, Bordoni, Uffreduzzi, D'Amato ont également signalé l'existence de virus de rue qui produisaient la mort du lapin dans un délai de six à dix jours.

Et à ce propos, rappelons les recherches extrêmement intéressantes de Levaditi, Nicolau et M^{lle} Schœn [9] sur les relations entre le virus fixe et le virus rabique de rue. Pour eux, le virus fixe ne représente qu'une variété de virus de rue, créée par voie de mutation. Cette mutation est une conséquence de l'adaptation de ce germe au névraxe du lapin, à la suite de nombreuses inoculations en série. Grâce à cette mutation, le virus fixe perd la faculté de produire des corpuscules de Negri (1) et présente une période d'inoculation plus courte et moins variable par inoculation intracérébrale. On sait que pour le virus « Pasteur », qui a subi deux mille passages cérébraux chez le lapin, elle est de sept à dix jours.

Introduit dans le tissu cellulaire sous-cutané, le virus de

(1) En ce qui concerne l'apparition des corpuscules de Negri, Marinesco et Stroesco [40] ont insisté sur la relation étroite qui existe entre la durée de l'incubation et la formation des corpuscules. D. Ionesco avait montré, d'ailleurs, que chez le hérisson, on voit se produire des corpuscules de Negri, même en expérimentant avec un virus fixe.

rue peut produire la rage dans une proportion de 70 p. 100, tandis que le virus fixe ne devient infectant que d'une façon exceptionnelle (sur 10 lapins, Levaditi n'eût qu'un cas de rage).

La virulence de la variété fixe est, d'autre part, cent fois plus grande que celle du virus rabique de rue (qui est actif chez le lapin par injection intracrânienne, dans la proportion de 1/100). Inspirés par les recherches de Schiffmann, Levaditi et ses collaborateurs étudièrent 13 souches de virus de rue, au point de vue de leur capacité de se transformer en virus fixe. Ils purent constater que certaines souches pouvaient être transformées en virus fixe dès les premiers passages intracérébraux au lapin. Dans cette catégorie entrent les virus naturellement renforcés, c'est-à-dire les virus à incubation très courte.

Une autre catégorie de virus de rue subissait une mutation après un certain nombre de passages sur le lapin. Ainsi dans les expériences de Schiffmann, une souche « Hruda » était devenue fixe à partir du quarante-cinquième passage sur le lapin.

En dehors de ces deux groupes, Levaditi Nicolau et M^{lle} Schœn trouvèrent des souches figées, non mutables, où tout essai de transformation en virus fixe aboutit à un échec. Il apparaissait que les souches pauvres *ab ovo* en corpuscules de Negri se transformaient plus vite en virus fixe.

Par conséquent il y a des variétés multiples de virus de rue et certaines d'entre elles se rapprochent par leurs caractères et surtout par leur incubation du virus fixe. Dans certains cas l'incubation était même beaucoup plus courte que celle du virus fixe. D. Ionesco [41] de Bucarest a étudié un virus rabique de rue provenant du loup et qui présentait une incubation de trois jours chez le lapin à partir de la première inoculation. Le virus provoquait, par inoculation intracérébrale, la mort du chien en quatre jours et, chez le coq, la paralysie après seize à dix-huit jours. Chez le chien de passage et chez le coq on a pu trouver des corps de Negri.

L'existence de tels virus rabiques de rue, qui par certains de leurs caractères se rapprochent du virus rabique fixe, rend très probable l'hypothèse que, même dans notre cas, il s'agit d'un virus de rue renforcé, qui n'a pu être influencé par le traitement préventif.

Dans le sens d'une infection rabique, à la suite de la morsure, nous avons aussi le fait que, dans la moelle cervico-dorsale du côté gauche (côté de la morsure), les lésions (et surtout les altérations cellulaires) étaient plus importantes que du côté droit.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] V. BABES. *Traité de la rage*, 1 vol. 1912.
- [2] SPIELMEYER. Histopathologie des Nervensystems. *Allgemein. Teil*, 1922.
- [3] SPATZ et SCHUKRY, Über die anatomische Veränderungen bei d. mensch. Lyssa. *Z. Neur.*, **97**, 1925, p. 627.
- [4] MARINESCO et DRAGANESCO, Recherches sur la pathologie de certaines encéphalites à ultravirus. *Rev. neur.*, **1**, janvier 1932.
- [5] SPATZ. Encephalitis in *Bumke Hdbuch d. Geisteskrankheiten*, 1930.
- [6] MARINESCO, MANICATIDE et DRAGANESCO, Etude clinique, thérapeutique et anatomo-pathologique sur l'épidémie de paralysie infantile de 1927. Ces *Annales*, Paris, **4**, 1929.
- [7] H. PETTE, Eine vergleichende Betrachtung der akut infektiösen Erkrankungen vornehmlich der grauen Substanz der Nervensystems. *Deutsche Zeit. f. Nervenheilh.*, **124**, n° 1-3, 1932.
- [8] REMLINGER, Les paralysies du traitement rabique. Rapport à la Conf. intern. de la rage, 1927.
- [9] LEVADITI, NICOLAU et M^{lle} SCHOEN, Recherches sur la rage. Ces *Annales*, Paris, n° 12, 1926, p. 973.
- [10] G. MARINESCO et G. STROESCO, Etudes sur la pathologie de la rage. *Archives roumaines de pathol. expér.*, **4**, n° 3-4, septembre-décembre 1931.
- [11] JONESCO DÉMÈTRE, Recherches sur un virus rabique de rue à virulence renforcée. Ces *Annales*, Paris, **49**, octobre 1932, p. 435.

DU MÉCANISME D'ACTION DE DIVERS COMPOSÉS CHIMIQUES SUR LES TOXINES BACTÉRIENNES

par S. SCHMIDT,

Institut sérologique de l'État (Copenhague).

Déjà E. Roux et A. Yersin, à qui nous devons la découverte du premier poison microbien, la toxine diphtérique, ont démontré que cette toxine s'atténue sous l'action de divers facteurs physiques et chimiques (ainsi : la chaleur et certains éléments tels que le chlore et l'iode ; des composés comme les acides, les alcalis, etc.). Des constatations semblables ont été faites aussi pour d'autres toxines et il faut se rappeler qu'on s'est servi, à cette époque, de toxines atténuées pour l'immunisation des chevaux producteurs de sérums antidiphtérique et antitétanique. Aussi, des recherches concernant l'action de divers antiseptiques sur des toxines ont abouti à des résultats fort intéressants. E. Salkovsky communiqua, en 1898, quelques essais avec l'aldéhyde salicylique, l'aldéhyde formique et le phénol. Il constata que ces substances exercent une action destructrice sur la toxine diphtérique. Après cette constatation, il émit l'idée qu'il existe peut-être une relation entre la faculté d'un antiseptique de détruire les toxines microbiennes et son action thérapeutique vis-à-vis de la maladie produite par ces mêmes toxines.

Plus tard, H. Vincent, après avoir constaté l'action destructrice de l'acide salicylique vis-à-vis de la toxine tétanique, s'exprime dans le même sens. Si l'on parcourt la littérature, on trouve de divers côtés un certain nombre de résultats sur l'action de tel ou tel composé chimique vis-à-vis des toxines microbiennes. Nous avons mentionné la plupart de ces publications dans notre monographie « The action of certain organic compounds upon diphtheria toxin » (Copenhague, 1932) qui contient les résultats d'une recherche systématique faite avec plus de 200 composés organiques différents, appartenant aux

groupes les plus importants de la chimie organique : paraffines, alcools, aldéhydes, acides, amines, amides, sucres, etc. Dans cette étude, nous avons pris soin d'observer strictement les points suivants :

1° Nous nous sommes toujours servi d'une même toxine parce que les diverses toxines diffèrent beaucoup en stabilité ; donc, si l'on emploie une toxine pour une série d'expériences et une toxine différente pour une autre série, les résultats obtenus ne seront pas comparables. La stabilité d'une toxine dépend en premier lieu de son âge, mais aussi de la constitution du milieu ayant servi à sa production ;

2° Pour toutes les séries, nous avons eu une toxine témoin qui était conservée dans les mêmes conditions que les mélanges de toxine et d'agents chimiques dont l'action devait être déterminée ;

3° Avec toutes les substances, nous avons fait des solutions équimoléculaires, ce qui facilite également la comparaison ;

4° Dans tous les cas, nous avons opéré à une concentration des ions hydrogènes constants. Il est bien connu que la stabilité d'une toxine est en rapport étroit avec le pH du milieu ; cela ressort en particulier nettement des recherches récentes faites dans le laboratoire du D^r Martin, expériences effectuées avec la toxine tétanique. Donc, des composés chimiques qui, en solution aqueuse, donnent une réaction soit fortement acide, soit fortement alcaline, agissent dans ces conditions beaucoup mieux que dans un milieu neutre. On trouve dans la littérature nombre d'exemples d'action des facteurs physiques ou chimiques (par exemple : l'électricité, l'oxydation, divers sels métalliques) auxquels les auteurs attribuent une action toxidestructrice. En réalité, il s'agit ici, tout simplement, des effets de l'action indirecte produite par la variation de la concentration en ions hydrogènes du milieu.

5° Pour le dosage de la toxine, nous avons utilisé une méthode physico-chimique : la méthode de floculation de G. Ramon. Comme on le sait, cette méthode permet un dosage rapide et exact du pouvoir neutralisant (pouvoir antigène intrinsèque) de la toxine. Au contraire, des expériences sur des animaux sont lentes à exécuter, peu exactes, et difficiles à reproduire. Pour les essais d'immunisation, il était naturelle-

ment important d'être fixé tout d'abord sur le pouvoir immunisant de la toxine utilisée. Par conséquent, nous avons transformé une certaine quantité de cette toxine en anatoxine. Comme il a été démontré par Ramon, la toxine diphtérique se transforme par une action combinée au formol et à la chaleur en un dérivé inoffensif qui possède les propriétés neutralisantes et immunisantes de la toxine primitive. Nous avons constaté nous-même, que les anatoxines possèdent un pouvoir immunisant identique à celui des toxines d'où elles dérivent. Donc, si l'on emploie comme étalon une anatoxine et qu'on immunise simultanément deux séries d'animaux, l'une avec l'anatoxine-étalon, l'autre avec la toxine rendue inoffensive par tel ou tel composé chimique, on peut — en injectant à ces animaux un certain nombre de doses mortelles de toxine diphtérique — obtenir une expression approximative du pouvoir immunisant des toxines altérées par les substances chimiques.

Nous donnons ici un court résumé de nos recherches :

Quant à la technique utilisée, disons seulement que la substance dont l'action devait être examinée était mélangée avec la toxine en tenant compte des précautions déjà mentionnées.

Les mélanges étaient abandonnés à l'étuve à une température de 37°. Après sept et trente jours respectivement, un titrage était fait par la méthode de floculation. En outre, la toxicité était déterminée sur le cobaye.

1° CARBURES D'HYDROGÈNE ET LEURS DÉRIVÉS HALOGÈNÉS.

Divers carbures d'hydrogène (pentane, hexane, heptane, octane, nonane et paraffine solide [point de fusion 43°]) se sont montrés indifférents vis-à-vis de la toxine diphtérique; au contraire, plusieurs dérivés halogénés, notamment le trichlorométhane et le tribromométhane accusent un effet destructeur fort prononcé. Cette action peut être difficile à constater pour certains composés qui s'hydrolysent pendant l'expérience, de sorte qu'il se forme de l'acide. Il est donc indispensable pour les recherches de ce genre de contrôler soigneusement la concentration en ions hydrogènes du milieu. Nous avons constaté que, entre pH 7 et pH 8, la vitesse de destruction de la toxine est à peu près constante.

2° ALCOOLS, ÉTHERS ET ESTERS.

Les premiers termes de la série des alcools monovalents primaires se sont montrés indifférents vis-à-vis de la toxine. Les alcools hexylique et amylique montrent un pouvoir destructeur très considérable. Ainsi, l'alcool hexylique ajouté à la toxine dans une proportion équivalent à la concentration décimale détruit complètement la toxine après une semaine de contact. Les alcools heptylique et octylique accusent encore un certain pouvoir destructeur tandis que les termes supérieurs sont sans effet. L'éther éthylique possède un effet destructeur très prononcé. Certains esters aussi, par exemple l'ester acétylacétique, ne sont pas indifférents vis-à-vis de la toxine, mais leur action est assez faible. Les cétones semblent être indifférentes.

3° ALDÉHYDES.

L'action de l'aldéhyde formique est si bien connue qu'il est superflu de nous en occuper ici. L'aldéhyde acétique (corps étudié avant nous par Berthelot et Ramon) et l'aldéhyde propylique détruisent la toxicité de la toxine, mais notamment pour ce dernier composé, cette destruction est accompagnée d'une perte considérable du pouvoir antigène. Les termes suivant C⁴ à C⁸ possèdent un certain effet destructeur qui intéresse à la fois les fonctions toxiques et antigènes de la toxine. A partir du C⁹, les aldéhydes se montrent indifférents. Le trichloroaldéhyde (chloral) et le butylchloral sont très efficaces.

4° ACIDES.

Les acides organiques aliphatiques (dont quelques-uns ont été examinés avant nous par H. Vincent) se comportent d'une façon assez intéressante. Les premiers termes sont inefficaces. Mais à partir du terme C³, on peut déceler un effet destructeur qui va en progressant avec la teneur en carbone de l'acide. L'acide propylique à la concentration normale détruit seule-

ment 20 p. 100 de la toxine, tandis que l'acide caprique accuse un effet beaucoup plus prononcé même à la concentration centinormale.

5° COMPOSÉS CYCLIQUES.

Parmi les dérivés du benzène, on trouve nombre de composés qui possèdent une action destructrice très forte vis-à-vis de la toxine. Mentionnons ici le phénol, la résorcine, les crésols, l'alcool benzylique, l'acide benzoïque et les acides aminobenzoïques. L'aldéhyde salicylique, la vanilline, l'eugénol, l'aldéhyde anisique détruisent complètement la toxine déjà après une semaine, il en est de même pour l'alcool cinnamique, l'aldéhyde cinnamique et l'acide cinnamique. Pour quelques-uns des composés très efficaces nous avons pu déceler l'effet destructeur déjà après quelques heures de contact. Il s'accroît alors avec le temps et, comme nous l'avons dit, dans nombre de cas un contact de sept jours suffit pour détruire complètement l'ensemble des propriétés spécifiques (fonctions toxique flocculante, neutralisante, immunisante de la toxine).

En considérant nos résultats d'expériences, nous avons été frappés par le fait que, parmi ces 200 différents composés chimiques examinés, on n'en a trouvé que quelques-uns (aldéhydes) qui détruisaient la toxicité de la toxine tout en respectant ses autres fonctions spécifiques. Cela concorde avec les résultats des expériences de Ramon, et de Ramon et Berthelot. Nous avions espéré trouver d'autres composés ayant une action semblable à celle des aldéhydes. On pouvait même s'imaginer qu'il existerait des composés qui détruiraient le pouvoir antigène de la toxine en respectant son pouvoir toxique. Cependant, cette hypothèse était *à priori* peu vraisemblable, vu que la fonction antigène est plus stable que la toxicité. Comme l'a montré en premier lieu Ehrlich, la toxine se transforme spontanément en toxoïde. Il faut donc toujours examiner non seulement la toxicité, mais aussi le pouvoir neutralisant, afin de décider si la molécule entière de la toxine a été attaquée par la substance chimique en question ou bien si l'on a affaire seulement à un processus de transformation de groupement toxique en toxoïdes. Nous n'avons pas trouvé

que nos résultats fourniraient la base d'une hypothèse, quant au mécanisme d'action des substances chimiques.

En d'autres termes, dans nos expériences, il faut distinguer seulement entre la formation des anatoxines et de l'atténuation de toxines de la manière déjà observée par Roux et Yersin, Calmette, Martin, Behring et ses collaborateurs il y a déjà quarante ans. Nos résultats d'expériences, ainsi que notre interprétation des faits, correspond avec ceux de P. Nélis et Nishiura ; ces auteurs, en faisant agir certaines substances chimiques sur la toxine diphtérique, avaient également constaté une destruction non seulement du pouvoir neutralisant et immunisant de la toxine. En revanche, H. Vincent et ses collaborateurs (Velluz, notamment) qui, également, dans une série de travaux, se sont occupés de l'action de divers composés chimiques sur les toxines microbiennes, ont avancé l'idée que la toxine n'est pas détruite, mais seulement dissimulée par la substance chimique, et qu'elle a conservé, par conséquent, son pouvoir immunisant. En réalité, dans ce genre d'expériences, pour examiner la question dans toute son ampleur et d'obtenir le maximum de précision dans les résultats, il faut déterminer le pouvoir neutralisant (valeur antigène intrinsèque) des toxines altérées par les corps chimiques, c'est ce que nous avons toujours fait.

En résumé, pour nous, les anatoxines sont des substances bien définies et bien établies, ainsi que nous avons eu l'occasion de l'exprimer maintes fois dans nos nombreux travaux élaborés depuis dix ans dans ce domaine.

Quant aux « crypto-toxines », il faut selon notre opinion, de nouvelles preuves expérimentales avant qu'il soit justifié d'admettre une distinction entre ces substances hypothétiques et ce qu'on a toujours appelé simplement : « toxines atténuées ».

BIBLIOGRAPHIE

- BERTHELOT, RAMON (A. et G.). *C. R. Acad. des Sciences*, **180**, 1925, 340.
NÉLIS (P.). *C. R. Acad. des Sciences*, **91**, 1924, 1159 ; *Ces Annales*, **40**, 1926, 666 ;
C. R. Soc. Biol., **114**, 1933, 591.
NISHIURA (J.). *Zeitschr. f. Immunforsch.*, **64**, 1929, 238.
RAMON (G.). *Ces Annales*, **39**, 1925, 1.

- ROUX (E.) et YERSIN (A.). Ces *Annales*, **3**, 1889, 273.
- SALKOWSKY (E.). *Berl. Klin. Wochenschr.*, **25**, 1898, 545 ; *C. R. Biochem. Zeitschr.*, **50**, 1913, 483.
- SCHMIDT (S.). *Acta Pathol. Microb. Scand.*, suppl. **12**, 1932 ; *C. R. Soc. Biol.*, **113**, 1933, 379, **113**, 1933, 882.
- VELLUZ (L.). *C. R. Soc. Biol.*, **102**, 1929, 743 et 819 ; **107**, 1931, 583 ; *C. R. Acad. des Sciences*, **193**, 1931, 372.
- VINCENT (H.). *C. R. Acad. des Sciences*, **63**, 1907, 623 et 693 ; **67**, 1909, 379 ; Ces *Annales*, **22**, 1908, 341 ; *C. R. Soc. Biol.*, **95**, 1926, 1025 ; *C. R. Acad. des Sciences*, **182**, 1926, 1307 ; **184**, 1927, 921 ; *Bull. Acad. de Méd.*, **100**, n° 28, 1928 ; *C. R. Acad. des Sciences*, **186**, 1928, 1175 ; **191**, 1930, 463.
- VINCENT (H.) et VELLUZ (L.). *C. R. Acad. des Siences*, **192**, 1931, 618.

NOUVELLES RECHERCHES CONCERNANT L'ACTION DU BCG SUR LE PORC

par I. JUNDELL et H. MAGNUSSON.

*Laboratoire bactériologique
de la Société d'Économie rurale de Malmö (Suède).*

Jusqu'en 1930, l'action du vaccin de Calmette chez le porc n'avait été contrôlée que par un nombre fort restreint d'auteurs. Leurs recherches avaient donné des résultats incertains ou contradictoires; en quelques circonstances même, elles n'avaient porté que sur *un* animal vacciné et *un* animal témoin.

Au cours des années 1930 et 1931, nous avons, pour notre part, fait une série d'expériences qui furent publiées dans ces *Annales* (t. 67, 1931, p. 408) et dans le *Skandinavisk Veterinärtidskrift* (1931). Notre but était de rechercher si, avec le vaccin de Calmette, on pouvait obtenir chez le porcelet une protection efficace contre une infection ultérieure avec des bacilles tuberculeux virulents d'origine bovine. Nos recherches ont porté sur 24 porcelets qui, au début de nos expériences, étaient sûrement non tuberculeux. 8 de ces 24 porcelets furent vaccinés à l'âge d'environ deux semaines par *injection sous-cutanée* de 10 milligrammes de vaccin BCG. 8 autres furent vaccinés à un âge compris entre trois et neuf jours par *l'administration buccale* de trois doses du même vaccin (dix milligrammes par dose). Deux mois après la vaccination, on infecta ces 16 animaux et 6 animaux témoins du même âge, en ajoutant à leurs aliments du lait contenant des bacilles tuberculeux. Deux porcelets qui n'avaient pas été vaccinés ne furent soumis à aucune infection artificielle. Il résulta de ces expériences que les porcelets vaccinés, aussi bien que les animaux témoins, présentaient tous, au bout de dix-neuf à vingt-deux semaines, quand on les abattit, une tuberculose

plus ou moins étendue et que les porcelets vaccinés avaient une tuberculose à peu près aussi intense et aussi étendue que les animaux témoins. Il n'y eut que les 2 animaux qui n'avaient été ni vaccinés, ni infectés, qui demeurèrent absolument exempts de tuberculose.

Peu de temps après la publication de notre travail, Hayes, Haring et Traum, aux États-Unis (*Hilgardia, Journal of Agricultural Science*, California, vol. 7, 1932, p. 235) firent savoir qu'ils avaient également obtenu de mauvais résultats dans leurs expériences avec le BCG sur le porc. Une série de porcelets qui n'avaient pas réagi à la tuberculine furent vaccinés par ces auteurs avec le BCG, par voie sous-cutanée pour 28 animaux, par voie intramusculaire pour 5, par voie intradermique pour 2, par voie intraveineuse pour 2; 6 animaux furent vaccinés par voie buccale au moyen de trois doses de vaccin BCG. Par comparaison avec les animaux témoins, au nombre de 27, on n'observa qu'une résistance insignifiante à la tuberculose de la part des animaux vaccinés de certains groupes. En somme, aucun des modes d'emploi du vaccin Calmette n'avait pu réussir à protéger sûrement les porcelets contre la tuberculose ou prévenir une tuberculose généralisée, quand ces animaux avaient ultérieurement reçu une alimentation contenant des bacilles tuberculeux virulents d'origine bovine ou subi une inoculation intraveineuse de ces mêmes bacilles.

Avant que ces recherches américaines fussent publiées, et en raison de l'issue franchement mauvaise de nos premières expériences sur le porcelet, nous avons déjà entrepris une nouvelle série d'expériences, afin de rechercher si diverses modifications dans notre plan pouvaient donner de meilleurs résultats. Nous avons noté que, chez les porcelets de nos premières expériences, la réaction locale consécutive à l'inoculation sous-cutanée du BCG était vraiment insignifiante, et que les nodules de vaccination avaient déjà complètement disparu au moment de l'autopsie — contrairement à ce que nous-mêmes, ainsi que d'autres observateurs, avons constaté chez le veau. Ces faits nous conduisirent à nous demander si, d'une manière générale, le vaccin de Calmette est capable de provoquer chez le porc un état allergique à l'égard de la tuber-

culine. Il nous vint de plus à l'esprit que la vaccination répétée des animaux serait peut-être en mesure d'améliorer les résultats de la vaccination. Nous nous proposons enfin de rechercher si l'action du vaccin de Calmette pouvait être renforcée par l'inoculation ultérieure de cultures faites avec les bacilles usuels des bovidés, mais dont la virulence serait atténuée, ou même nulle.

Les recherches dont nous allons parler furent exécutées dans les stalles d'isolement du laboratoire bactériologique de la Société d'économie rurale de Malmö. Afin d'avoir des animaux sûrement exempts de tuberculose, on acheta 5 truies pleines dans une région où, d'après les renseignements du vétérinaire de district, M. Edv. Olsson, de Höör, on n'avait sûrement pas constaté de tuberculose chez le porc. Les truies mirent bas entre le 8 et le 18 septembre 1931 dans les stalles dépendant du laboratoire; le nombre des porcelets s'élevait à 49. Sur ce nombre, 5 moururent dès le second jour; ils provenaient d'une truie qui avait eu 12 porcelets. Trois autres moururent aussi également à une date si précoce qu'ils ne purent figurer dans la série en expérience. Pour nos recherches, il restait donc 41 jeunes porcelets. Pendant toute la durée de l'observation, ces animaux demeurèrent séparés des autres animaux. Ni pendant qu'ils séjournèrent près de leurs mères respectives, ni plus tard, ils ne reçurent une alimentation qu'on pût supposer contenir des bacilles tuberculeux, sauf au moment où ils furent intentionnellement infectés avec des quantités déterminées de produits virulents. Les animaux vaccinés étaient maintenus dans des stalles spéciales et se trouvaient ainsi isolés de ceux qui jouaient le rôle de témoins. Ces derniers provenaient tous de la même truie.

Dans les recherches que nous allons exposer, de même que dans nos recherches antérieures, les cultures de BCG que nous avons employées provenaient d'une culture originelle que nous avait fournie Calmette lui-même. La tuberculine employée avait été livrée par le laboratoire de bactériologie vétérinaire de l'État; elle était de la même espèce que celle dont on se sert en Suède dans la campagne entreprise contre la tuberculose avec l'appui de l'État. Pour l'épreuve de la tuberculine, nous injectons à la base d'une oreille 0 c. c. 1 de tuberculine

à 50 p. 100 par voie intracutanée au moyen d'une fine aiguille. Une souche de bacilles tuberculeux non virulents d'origine bovine nous fut expédiée par M. N. Plum, Directeur des Recherches au laboratoire de sérologie vétérinaire de l'État, à Copenhague (chef du laboratoire: M. le Professeur C. O. Jensen); il s'agissait d'une culture fraîche provenant d'une ancienne souche de tuberculose de la mamelle. Cinq milligrammes de cette culture, inoculés par voie sous-cutanée, déterminaient un abcès local chez le cobaye et le lapin, mais après huit mois d'observation il ne se produisait pas de généralisation. Pratiquement, on pouvait donc la considérer comme avirulente. Du reste, les expériences dont il va être question furent exécutées en des points convenables, de la même manière que pour les premières que nous avons publiées au sujet du porc. Cette remarque s'applique aussi bien à la préparation du vaccin et à son emploi qu'à la manière dont l'animal fut traité et à l'autopsie

SÉRIE A COMPRENANT LES GROUPES I, II ET III FORMÉS
RESPECTIVEMENT DE 8, 9 ET 8 ANIMAUX.

Chez tous les animaux de cette série nés entre le 9 et le 18 septembre 1931, l'épreuve à la tuberculine eut lieu pour la première fois quand les animaux avaient de quatre à cinq semaines. A ce moment, pour les groupes II et III, il s'était écoulé quatre semaines depuis la première vaccination. Aucun des animaux ne réagit lors de cette première épreuve. A l'occasion de la seconde épreuve à la tuberculine, exécutée cinq semaines après que les animaux des groupes II et III avaient été vaccinés une seconde fois, 7 animaux sur 9 dans le groupe II (vaccinations par voie buccale) et tous les animaux du groupe III (vaccinations sous-cutanées) donnèrent une réaction positive. L'infection par des bacilles tuberculeux virulents fut effectuée cinq semaines après la dernière épreuve à la tuberculine. Les porcelets étaient alors âgés de dix-sept à dix-huit semaines. *Dans le groupe I, 8 animaux témoins; dans le groupe II, 9 animaux vaccinés par voie buccale, et dans le groupe III, 8 animaux vaccinés par voie sous-cutanée* furent infectés à trois reprises: la première fois, le 13 janvier 1932, avec du tissu mammaire broyé contenant des bacilles tuberculeux (50 grammes par porcelet); la seconde fois, le 27 janvier 1932, avec 30 grammes de tissu mammaire également broyé et contenant des altérations tuberculeuses; la troisième fois, le 20 février 1932, avec du lait contenant des bacilles tuberculeux (40 grammes par animal). Les doses infectantes qui précèdent étaient en somme peu considérables, car les produits employés n'avaient qu'une faible teneur en bacilles tuberculeux. D'une manière générale, lors de l'examen microscopique, on n'apercevait au total qu'un seul bacille par champ.

Après que les animaux du groupe I, c'est-à-dire les 8 témoins, eurent atteint l'âge convenable pour être abattus, ils cessèrent d'augmenter de

poids d'une manière normale, proportionnellement à l'alimentation qu'ils recevaient; en même temps ils présentèrent des tuméfactions importantes dans la région cervicale. Tout ceci paraissait indiquer une tuberculose en cours; ils furent donc abattus, sauf un qu'on garda jusqu'à ce qu'il eût presque dix mois. Quant aux autres, ils furent sacrifiés : 1 huit semaines, 4 onze semaines et 2 quinze semaines après la première infection. Tous ces animaux étaient atteints de lésions tuberculeuses bien visibles dans les ganglions des organes digestifs; 4 d'entre eux avaient même des foyers dans le tissu hépatique.

Les animaux du groupe II, au nombre de 9 avaient été *vaccinés par voie buccale* : une première fois, à l'âge d'une semaine, par ingestion de 10 milligrammes d'une *culture de BCG*, et une seconde fois de sept semaines, par l'ingestion de 40 milligrammes de cette même culture; tous montraient une tuberculose en voie de développement assez rapide et à l'autopsie, faite de onze à vingt et une semaines après la première infection, ils offraient des lésions très avancées, surtout dans les ganglions de la tête. Les 7 qui avaient fait preuve d'un état allergique avant qu'on les infectât présentaient une tuberculose aussi avancée que les 2 qui n'avaient pas réagi à la tuberculine. Par conséquent, onze semaines après la première infection, 5 des porcelets montraient déjà, lors de leur abatage, des ganglions sous-maxillaires tuberculisés pouvant atteindre le volume d'un œuf de poule; 2 porcelets qu'on avait laissé vivre pendant vingt et une semaines après leur première infection montraient également, à l'époque de leur abatage, une tuberculose ganglionnaire très avancée. Chez aucun animal on ne put découvrir une tendance à la guérison des processus tuberculeux. Comparés aux témoins, les animaux de ce groupe n'offraient aucune différence évidente. Toutefois, avant la fin de la période d'observation, le processus n'avait envahi, chez aucun des 9 animaux vaccinés, les organes eux-mêmes : il s'était exclusivement limité aux ganglions lymphatiques.

Le groupe III comprend 8 porcs, nés le 13 septembre, le 16 septembre 1931, qui, le jour même de leur naissance, reçurent une injection *sous-cutanée* de 10 milligrammes de BCG et le 28 octobre, à l'âge de six semaines, une nouvelle injection de 20 milligrammes. Ces 8 jeunes porcs furent abattus successivement : 2 huit semaines, 2 onze semaines, 1 dix-huit semaines, 2 vingt et une semaines et 1 trente-deux semaines après la première infection. L'un d'eux était absolument indemne de tuberculose, bien qu'au moment de son abatage vingt et une semaines se fussent écoulées depuis la première infection. Un autre, abattu trente-deux semaines après l'infection, offrait des lésions tuberculeuses en voie de guérison. Quant aux 6 autres, ils avaient, au moment de leur abatage, une tuberculose ganglionnaire floride, surtout développée dans les ganglions de la tête. Aucun des animaux vaccinés de ce groupe ne présenta non plus de tuberculose viscérale. En conséquence, on peut dire que dans ce groupe la situation était un peu meilleure que parmi les animaux témoins. La différence n'était pourtant pas considérable.

SÉRIE B COMPRENANT LES GROUPES IV, V ET VI FORMÉS RESPECTIVEMENT DE 4, 3 ET 3 ANIMAUX.

Le groupe IV comprend 4 porcelets, nés le 8 septembre 1931, *vaccinés par voie buccale* à deux reprises : le 15 septembre avec 10 milligrammes et le

28 octobre avec 40 milligrammes d'une culture de BCG; à ces deux dates, ils étaient respectivement âgés de une à sept semaines.

Le groupe V comprend 3 porcelets, nés le 8 septembre 1931, vaccinés par voie sous-cutanée, une première fois le 13 septembre avec 10 milligrammes, une seconde fois, le 28 octobre, avec 20 milligrammes d'une culture de BCG et aux mêmes âges que les animaux du groupe IV.

Un mois environ après la première vaccination, tous les animaux des groupes IV et V (de même que tous les animaux des groupes II et III) donnèrent une réaction négative à la tuberculine. Par contre, tous les animaux des groupes IV et V (sauf 1 du groupe IV) donnèrent, après leur seconde vaccination *per os* ou sous-cutanée, une réaction positive.

Après leur vaccination par le BCG, les animaux des groupes IV et V reçurent avec leurs aliments, à deux reprises (le 18 janvier 1932 et le 27 janvier 1932), de grosses doses de bacilles tuberculeux non virulents, provenant de la culture précitée, soit 1 gramme de culture par porcelet chaque prise. Ils furent ensuite infectés une fois, le 20 février, avec 40 grammes de lait provenant d'une vache atteinte de tuberculose mammaire. C'était le même produit qu'on avait employé pour les porcelets des groupes II et III quand ils furent infectés pour la troisième fois.

Avec les animaux servant de témoins pour les 7 porcelets des groupes IV et V, on forma un groupe VI comprenant 3 porcelets, nés le 8 septembre 1931, non traités par le vaccin de Calmette, mais qui, en échange, comme les animaux des groupes IV et V, furent alimentés en même temps que ces derniers et à deux reprises avec 1 gramme de bacilles tuberculeux non virulents du genre précédemment indiqué. Chez ces animaux témoins, l'infection avec des produits virulents fut opérée également avec du lait fourni par la vache précitée atteinte de tuberculose mammaire.

Six semaines après leur infection avec du lait tuberculeux, les 3 porcelets de contrôle du groupe VI présentèrent des lésions apparemment insignifiantes. Les 4 porcelets du groupe IV avaient, eux également, des lésions tuberculeuses aussi insignifiantes que celles des animaux de contrôle, et ceci bien qu'ils n'eussent été abattus que de onze à dix-sept semaines après l'infection.

Les 3 animaux du groupe V ne présentaient pas de tuberculose au moment de leur abattage, de cinq à neuf semaines après l'infection.

Les 3 animaux du groupe V peuvent ainsi être donnés en preuve de la résistance manifeste que produiraient des vaccinations sous-cutanées répétées avec le vaccin de Calmette, quand on les associe à l'administration perorale, de grandes quantités de bacilles tuberculeux non virulents spéciaux.

Il convient pourtant de noter que dans tous les groupes IV, V et VI, par conséquent dans toute la série B, la dose infectante était faible, peut-être même trop faible, pour autoriser des conclusions sûres. Les expériences de la série B ont en outre ce défaut que la durée du temps d'observation pour les animaux de contrôle (groupe VI) fut trop courte.

SÉRIE C COMPRENANT LES GROUPES VII ET VIII RESPECTIVEMENT FORMÉS DE 4 ET 2 ANIMAUX.

Au groupe VII appartiennent 4 porcelets témoins qui ne furent ni vaccinés ni infectés. Ils étaient nés le 18 septembre 1931 et ils furent maintenus dans la même étable que les animaux vaccinés et leurs témoins, mais dans un

« box » séparé. Ils reçurent la même nourriture que les autres animaux. Ils subirent l'épreuve à la tuberculine au même moment que ces derniers (le 13 octobre et le 3 décembre) et ne présentèrent alors aucune réaction. Deux des animaux du groupe VII furent abattus le 9 mars 1933 à l'âge de vingt-cinq semaines; les deux restants le furent, le 31 mars, à l'âge de vingt-huit semaines. Les deux premiers pesaient chacun 81 kilogrammes et les deux autres, respectivement, 90 et 95 kilogrammes. Aucun d'eux ne montra de tuberculose lors de l'abatage. Les observations faites sur le groupe VII nous apprennent donc qu'elle était, dans les conditions de nos expériences, la marche du développement chez 4 animaux sains; elles prouvent, de plus, qu'il ne fut pas introduit de contagé dans l'étable par des voies échappant à notre surveillance.

Le groupe VIII comprend 2 animaux qui, à l'origine, faisaient respectivement partie des groupes II et III, mais qui, plus tard, en furent exclus, parce qu'ils succombèrent prématurément à une affection intercurrente.

L'un d'eux était un porcelet destiné au groupe II et vacciné par voie buccale le 15 septembre. Il mourut d'une hernie étranglée dix-sept jours seulement après sa vaccination. Il était alors âgé d'environ quatre semaines. A l'examen microscopique de préparation par frottis des ganglions cervicaux et bronchiques, on put constater la présence de bacilles acido-résistants (très certainement des BCG). A l'œil nu, les ganglions n'étaient pas altérés.

Le second de ces animaux, né le 8 septembre, qui était destiné au groupe III et qui avait été vacciné par voie sous-cutanée à deux reprises (le 18 septembre et le 28 octobre), mourut d'une pneumonie intercurrente dix jours après sa seconde vaccination. Dans ses ganglions mésentériques et bronchiques, on put aussi constater au microscope la présence de bacilles acido-résistants (BCG). Les observations incidemment faites sur ces deux animaux montrent que, chez les jeunes porcs, aussi bien *per os* que par la voie sous-cutanée, l'inoculation du BCG amène, ou tout au moins peut amener, la pénétration des bactéries dans les voies lymphatiques et la dissémination du contagé dans tout le système ganglionnaire.

En recherchant avec quelle fréquence la vaccination par le BCG des enfants nouveau-nés provoque l'allergie, les auteurs ont obtenu des résultats fort dissemblables. On l'explique par le fait que les uns ont examiné des enfants qui, après leur vaccination, avaient été complètement mis à l'abri de l'infection tuberculeuse naturelle, tandis que les autres ont examiné des enfants chez lesquels une infection de ce genre s'était probablement produite ou tout au moins ne pouvait être exclue d'une manière certaine. Il est une autre cause importante, à ce qu'il semble, de la diversité des chiffres relatifs à la fréquence d'apparition de l'allergie : c'est que les auteurs en cause ont respectivement employé, pour l'épreuve à la tuberculine, des méthodes d'une valeur très différente. Dans les expériences que nous venons de décrire chez le porc, nous avons unique-

ment employé pour cette épreuve une méthode absolument sûre, et la possibilité d'une infection tuberculeuse venue du dehors se trouvait exclue. Or, il résulte de ces expériences que la réaction à la tuberculine fit constamment défaut quatre semaines après la première vaccination pérorale ou sous-cutanée. Un fait particulièrement digne de remarque est aussi qu'une seule vaccination *sous-cutanée* par le BCG est insuffisante pour créer l'allergie. Ce fut seulement cinq semaines après une seconde vaccination par voie buccale ou sous-cutanée qu'on obtint, au moins dans la plupart des cas, une réaction positive avec la tuberculine.

Les animaux vaccinés par voie sous-cutanée montraient au point d'inoculation une induration limitée, mais qui disparaissait complètement au bout de deux mois. Chez le porcelet qui mourut d'une cause intercurrente, dix jours après la seconde vaccination sous-cutanée, on trouva, au point de la seconde injection, un nodule gros comme une noisette ; ce nodule contenait plusieurs foyers de nécrose sèche et de nombreux BCG. Mais chez les autres animaux inoculés par voie sous-cutanée, on ne découvrit, à l'abatage, aucun vestige des nodules d'inoculation.

RÉSUMÉ.

Chez les porcs vaccinés *per os* avec le BCG, nous n'avons pu, quatre semaines après la vaccination, constater d'allergie à l'égard de la tuberculine. Il en fut de même chez les porcs inoculés avec le BCG par voie sous-cutanée. Une seconde vaccination par voie buccale ou sous-cutanée, pratiquée cinq semaines après la première, fut suivie, dans la plupart des cas, lors des épreuves exécutées cinq semaines après cette seconde vaccination, d'une réaction positive à la tuberculine.

Avec le seul vaccin de Calmette, qu'il ait été administré par voie digestive ou par voie sous-cutanée, nous n'avons pas réussi à prévenir le développement de la tuberculose chez les porcs soumis à une alimentation contenant des produits tuberculeux virulents. Et ceci bien que les animaux eussent été vaccinés deux fois à six semaines d'intervalle.

La vaccination sous-cutanée avec le vaccin de Calmette, puis

une alimentation contenant de grandes quantités de bacilles tuberculeux non virulents provenant d'une souche spéciale, créèrent peut-être un état de résistance à une infection tuberculeuse virulente. Toutefois, nos recherches concernant cette dernière manière de procéder devraient être répétées, et, dans ce cas, il faudrait éviter certaines défectuosités qui s'opposent à en tirer des conclusions parfaitement sûres.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU TYPHUS EXANTHÉMATIQUE

par MARGUERITE RONSE.

(*Institut de Bactériologie de l'Université de Louvain.*
Directeur : Prof. R. Bruynoghe.)

Introduction.

Si l'étude expérimentale des fièvres exanthématiques a préoccupé un aussi grand nombre de chercheurs en ces dernières années, c'est que les découvertes modernes ont établi combien elles étaient répandues dans le monde et combien grand était leur rôle dans la pathologie humaine.

Ce sont les géniales recherches de Ch. Nicolle et de ses collaborateurs, décrivant l'agent étiologique du Typhus exanthématique et son mode de propagation, qui permirent les premiers travaux autorisant les auteurs à admettre comme très apparentées diverses affections considérées comme distinctes jusqu'alors. Ainsi l'on put rapprocher du Typhus tunisien, le Tabardillo du Mexique et la maladie du Brill qui fut décrite dans l'État de New-York vers la fin du xix^e siècle par l'auteur précité.

La transmission du typhus au cobaye favorisa pour une grande part les progrès opérés dans ce domaine.

Plus récemment, les recherches de Mooser (1) établissant que les rats peuvent être un réservoir de virus et le propager à l'homme par l'intermédiaire de leurs ectoparasites, notamment leurs puces, modifièrent les conceptions admises sur le mode de dissémination du typhus exanthématique. En effet, étant donné que les rongeurs sont ou peuvent être transportés à de grandes distances par les navires, cette maladie, par le

(1) MOOSER, ZINSSER et CASTENADA. *Journ. of Exp. med.*, vol. LIV, 1931.

fait même, peut s'implanter dans des pays non infestés jusqu'alors. Si l'hygiène joue un rôle des plus importants pour la défense contre le typhus en faisant, par la propreté, disparaître les poux, agents transmetteurs, un autre facteur, celui des relations commerciales des peuples, peut par l'intermédiaire des rats entraîner la propagation du typhus.

En fait, les recherches menées dans ces dernières années ont permis de retrouver le virus non seulement dans les ports des pays infectés, mais aussi dans les ports et les villes de pays où jusqu'ici la maladie n'avait jamais été décrite.

Nous pouvons citer comme exemple : le virus isolé à Mexico par Mooser et ses collaborateurs (1), à Athènes et Beyrouth par Lépine (2), à Casablanca par Blanc (3), à Toulon par Marcandier et Pirot (4), en Mandchourie par Kodma et Kohno (5), et tout récemment à Anvers par R. Bruynoghe et J. Jadin (6).

Ce typhus retrouvé chez les rats des ports, encore appelé typhus murin et existant à l'état endémique, se différencie pourtant du typhus humain ou historique à caractère épidémique par diverses particularités.

Le virus murin produit chez le cobaye une infection caractérisée par de la fièvre et par une réaction scrotale évidente ; l'exsudat qui recouvre les tuniques vaginales contient un nombre considérable d'éléments bacilliformes connus sous le nom de *Rickettsia prowazeki*. Chez le rat, ce typhus entraîne une maladie souvent mortelle.

Le typhus historique ou humain inoculé au cobaye provoque chez ce dernier une réaction thermique caractéristique, mais celle-ci n'est pas accompagnée d'orchite et, de plus, le rat ne fait qu'une infection inapparente.

Immunologiquement, cependant, ces virus vaccinent l'un vis-à-vis de l'autre, si bien que la question de l'unité du typhus reste très discutée, l'opinion défendant une origine commune s'accréditant de plus en plus.

(1) MOOSER, CASTENADA, ZINSSER. *Journ. Amer. med. Assoc.*, **97**, n° 4, 1931, p. 231.

(2) LÉPINE. *C. R. Soc. biol.*, **109**, 1932.

(3) G. BLANC, M. NOURY, M. BALTAZARD et M. FISCHER. *C. R. Soc. Biol.*, **113**, 1933, p. 132.

(4) MARCANDIER et PIROT. *C. R. Acad. Sciences*, **198**, 1932.

(5) KODMA, TAKAHASGI et I.-P. KOHNO-KITASATO. *Arch. exp. Med.*, vol. IX, 1932.

(6) R. BRUYNOGHE et JADIN. *Arch. intern. méd. expér.*, vol. VIII, fasc. 3, 1933.

D'après Ch. Nicolle, le foyer primitif siégerait en Extrême-Orient et, de là, nous serait venu par voie de terre le typhus humain accompagnant les exodes humains et se transmettant par les poux. Le typhus murin serait venu par voie marine s'adaptant aux rats et se transmettant par les puces.

Toutefois ces modes de transmission n'ont rien d'absolu. En effet, l'homme peut être atteint par le virus murin et si l'individu appartient à un milieu de population dense et poulieuse, cette maladie peut se transmettre rapidement d'homme à homme par les poux; par conséquent, le typhus murin d'endémique peut prendre un caractère épidémique.

C'est vraisemblablement ce qui se passe actuellement en Chine où Tchang et Cajdos (1) ont isolé à diverses reprises, chez l'homme, un virus qui a tous les caractères du virus murin.

D'autre part, les rats peuvent faire un typhus inapparent dû au virus historique et celui-ci se propagera à d'autres rats par l'intermédiaire de leurs ectoparasites (poux, puces). Il en résulte que les deux modes de propagation peuvent en quelque sorte se superposer suivant les milieux et les circonstances.

Quoi qu'il en soit, les recherches entreprises au cours de ces dernières années ont permis de déceler la présence du Typhus exanthématique dans divers ports et il est des plus vraisemblables que les recherches futures prouveront combien ce mal est répandu.

Dès lors, l'étude de son mode de propagation par les rongeurs devient une question intéressant au plus haut point les hygiénistes modernes. C'est le principal objet du travail que nous avons entrepris. Nous avons essayé de le compléter par diverses autres investigations que nous exposerons au cours de cette étude.

Pour nos recherches, nous avons utilisé la souche isolée à Anvers par R. Bruynoghe et J. Jadin et entretenue sur cobaye à l'Institut de bactériologie de Louvain.

Cette souche présente tous les caractères distinctifs du Typhus murin et les différents passages opérés jusqu'ici ne l'ont encore en rien altérée.

(1) S. CAJDOS et J. TCHANG, Studies on Typhus Fever in China. *The Catholic university press*. PEIPING, 1933.

La maladie est transmise d'un animal à l'autre, en prélevant vers le troisième jour de l'orchite le testicule du cobaye et en inoculant la macération de la vaginale émulsionnée dans l'eau physiologique dans le péritoine d'un autre cobaye mâle.

Les frottis de cet organe, colorés au May Grunwald-Giemsa, contiennent de très nombreuses et très distinctes *Rickettsia* et il n'est pas rare de découvrir de très beaux et typiques corps de Mooser.

La maladie se déclare chez le cobaye après quatre jours d'in-

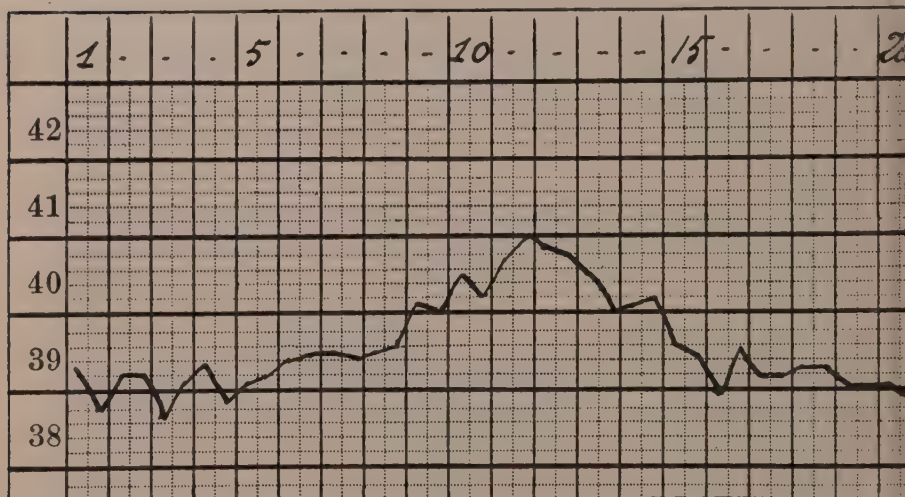


FIG. 1. — Courbe thermométrique d'un cobaye inoculé avec notre souche de virus.

cubation et se manifeste sous forme d'une ascension thermique élevée (40°) pendant quatre à sept jours, accompagnée dès le second jour d'orchite qui dure trois à cinq jours.

Nous attirons l'attention sur le fait que cette souche donne au cobaye inoculé une orchite constante et particulièrement plus intense que celle observée avec certaines autres souches de virus murin.

Ch. Nicolle entretient notre virus dans ses laboratoires de l'Institut Pasteur de Tunis et dans un travail publié récemment en collaboration avec Laigret (1), il a fait connaître les carac-

(1) Ch. NICOLLE et LAIGRET. *Arch. de Inst. Past. de Tunis*, 22, fasc. 3, 1933, p. 338.

tères antigéniques de ce virus qui confère à l'animal guéri des propriétés sérologiques qui le rendent réfractaire non seulement à l'inoculation des diverses souches de virus murin, mais aussi au virus du vieux monde et, jusqu'à un certain degré, contre la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses.

Bruynoghe et Jadin étaient d'ailleurs déjà arrivés au même résultat lors de leurs expériences d'immunité croisée vis-à-vis du virus Zinsser que Ch. Nicolle avait mis à leur disposition.

Si les recherches analysées dans notre introduction ont élucidé maints problèmes relatifs à l'étiologie du Typhus exanthématique, il n'en reste pas moins vrai que cette question comporte encore pas mal d'énigmes.

C'est ce qui nous a engagés à entreprendre une série d'investigations au sujet de la propagation du virus par les divers rongeurs et, éventuellement, par d'autres espèces animales. Nous nous sommes également intéressés au mécanisme de l'infection de ces animaux, et nous envisageons notamment le rôle des ectoparasites et l'infection par les voies digestives.

Dans d'autres chapitres, nous étudions l'agent infectant et les réactions qu'il produit chez les animaux infectés et chez les personnes vaccinées. Enfin, nous relatons les résultats de quelques essais de chimiothérapie.

I

Il est aisé de saisir l'importance de la réceptivité des diverses espèces de rongeurs, étant donné qu'ils peuvent intervenir dans la propagation de la maladie au même titre que les rats, pour autant, bien entendu, qu'ils soient pourvus d'ectoparasites susceptibles de prendre et de conserver le virus et de le transmettre à l'homme.

Ch. Nicolle (1) fut le premier à faire quelques investigations dans cette voie en examinant la sensibilité des mérions (*Meriones shawi*) vis-à-vis du virus historique.

Plus récemment, Lépine (2) d'une part, Laigret et Jadin (3)

(1) CH. NICOLLE. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, **14**, 1925.

(2) PIERRE LÉPINE. *C. R. Soc. Biologie*, **110**, fasc. 21, 1932, p. 442.

(3) LAIGRET et JADIN. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, **21**, fasc. 3, 1933, p. 381.

d'autre part ont examiné le comportement des virus exanthématiques sur des souris.

De ces recherches, il résulte que le virus épidémique s'adapte aux mérions (Nicolle) et aux souris (Lépine) et qu'il en est de même chez cette espèce animale pour virus endémique (Laigret et Jadin).

Nous avons étendu ces investigations sur toute une série de rongeurs de notre pays et sur quelques autres espèces animales.

RATS.

Cet animal est, parmi les rongeurs, celui qui joue le rôle le plus important dans la propagation de la maladie.

Mooser a isolé à diverses reprises le virus chez ceux-ci et Marcandier (1) a pu établir que le virus isolé par lui chez les matelots du cuirassé *Paris* était semblable à celui isolé chez les rats capturés sur le même navire.

Comme nous l'avons indiqué, c'est par leurs puces que les rats infectés transmettent le plus souvent la maladie à l'homme. Le virus du Typhus endémique entraîne chez le rat sauvage une infection toujours grave; tandis que le virus du typhus épidémique produit chez cet animal une infection inapparente.

Etant donné leur rôle dans cette propagation, il nous a paru intéressant de comparer aussi exactement que possible la gravité de l'infection chez les rats blancs et chez les rats sauvages.

Il est évident qu'une infection qui entraîne régulièrement la mort des animaux se transmet moins aisément dans la nature qu'une infection non mortelle, permettant aux animaux infectés de propager le contagion sur une plus grande échelle dans le temps et dans l'espace.

Le rat sauvage est effectivement plus résistant que le rat blanc, vu qu'un faible pourcentage seulement succombe au cours de l'affection. On s'explique ainsi, plus aisément, leur rôle dans la propagation de la maladie et la conservation du virus, d'autant plus que celui-ci peut persister dans le cerveau de ces

(1) MARCANDIER, PLAZY, LE CHUITON et R. PIROT. *B. Acad. méd.*, **105**, 23 juin 1931, p. 1012; MARCANDIER et R. PIROT. *C. R. Acad. sciences*, **114**, 1932, p. 399.

animaux durant des semaines, voire des mois. Nous ne mettons cependant pas l'évolution non mortelle de l'infection naturelle chez les rats sauvages sur le compte exclusif de leur résistance relative au virus envisagé, car la question des doses, sur laquelle Lépine a judicieusement insisté, a aussi son importance. Il est évident que les infections réalisées par les poux et les puces sont habituellement moins massives, que celles que nous pratiquons expérimentalement, et cette différence dans les doses peut parfaitement expliquer l'évolution plus bénigne des infections naturelles. Comme nous le dirons à propos des infections par la voie digestive, c'est vraisemblablement encore ce facteur qui intervient dans les infections inapparentes qui succèdent à l'ingestion de virus.

Nous avons infecté un lot de rats blancs et un lot de rats sauvages au moyen d'une macération de vaginale de cobayes typhiques.

Nous résumons dans le tableau suivant l'évolution de ces infections :

RATS BLANCS

1. Meurt après 17 jours.
2. Meurt après 15 jours.
3. Meurt après 8 jours.
4. Meurt après 10 jours.
5. A survécu.
6. A survécu.
7. Meurt après 8 jours.
8. Meurt après 8 jours.

RATS SAUVAGES

1. A survécu.
2. Meurt après 5 jours.
3. Sacrifié après 24 jours.
4. Sacrifié après 4 mois.
5. Sacrifié après 5 mois.
6. Sacrifié après 20 jours.
7. Sacrifié après 5 mois.

La différence d'évolution ressort donc nettement. 2 rats blancs sur 8 ont survécu, alors que tous les rats sauvages, à l'exception d'un seul, ont résisté.

Les rats blancs font généralement vers le quatrième ou cinquième jour qui suit l'inoculation du virus, durant quarante-huit heures, de la fièvre, puis ils présentent de l'hypothermie et meurent vers le neuvième ou dixième jour.

Dans les frottis de leur vaginale, nous avons régulièrement décelé des *Rickettsia* typiques.

Quant aux rats sauvages, nous nous sommes contenté de suivre l'évolution de leur infection. Il est difficile de prendre la température de ces animaux sans les anesthésier, et sem-

blable opération ne pouvait évidemment se répéter sans altérer leur résistance.

Quelques rats sauvages ont été sacrifiés plusieurs mois après leur infection. Ces expériences avaient plus en vue de préciser la persistance de ce virus dans le cerveau de ces animaux que de contrôler leur réceptivité, qui est universellement admise.

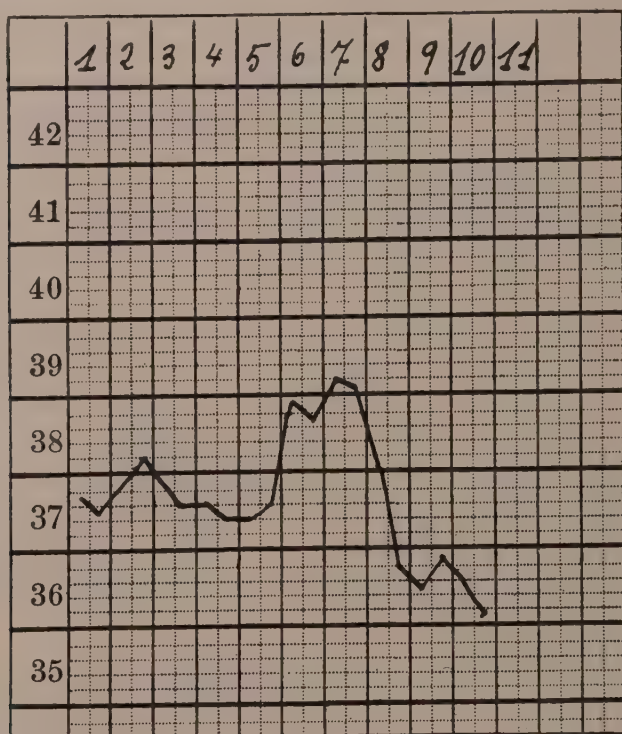


FIG. 2. — Courbe thermométrique du rat blanc inoculé avec le virus murin.

Charles Nicolle (1) avait examiné cette question et prouvé que ces rongeurs restaient au moins infectants durant deux mois. Lépine (2) avait trouvé le cerveau des rats encore infectant après quarante-deux, quarante-quatre et quatre-vingt-seize jours.

On pouvait dès lors se demander si ces rongeurs ne pouvaient héberger indéfiniment le virus infectant.

(1) NICOLLE et LAIGRET. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, 21, fasc. 3, 1933, p. 357.

(2) LÉPINE. *Ces Annales*, 51, 1933, p. 323.

De nos recherches, il résulte que si le virus reste dans le cerveau durant un laps de temps considérable et si nous nous basons sur nos propres constatations ainsi que sur celles de Nicolle et de Lépine, il ne faut cependant pas en déduire qu'il y persiste d'une manière indéfinie, étant donné que trois animaux sacrifiés après plusieurs mois étaient indemnes de virus. Les animaux avaient été sérieusement infestés, puisque d'autres rats du même lot, infectés au même moment et avec le même virus de passage mais sacrifiés plus rapidement après l'inoculation, avaient fourni du matériel infectant pour les cobayes. Bien entendu, dans nos expériences, le virus a été recherché par l'inoculation de la macération cérébrale non soumise à l'électrophorèse : opération qui a permis à Olitsky et ses collaborateurs (1) de déceler d'autres virus dans des organes qui, inoculés tels quels, s'étaient comportés comme s'ils ne contenaient plus d'éléments infectants.

Sans doute cette disparition, si elle se réalise effectivement, varie dans le temps d'un animal à un autre, mais nos observations relatées ci-dessus montrent que la conservation est, malgré tout, suffisamment prolongée pour que les rats, au contact des autres puissent, par l'intermédiaire de leurs ectoparasites, propager la maladie sur une grande échelle.

MULOTS (*Mus sylvaticus*.)

Cet animal, intermédiaire entre le rat et la souris et par conséquent très apparenté à eux au point de vue zoologique, semblait être le premier indiqué pour rechercher sa réceptivité vis-à-vis du virus et son aptitude à le transmettre.

Nous avons fait des essais sur 7 animaux. Ils furent tous injectés avec de la macération d'organes, dont l'infectiosité fut contrôlée. Mais, étant donné les premiers résultats négatifs, nous les avons injectés avec des organes d'origine différente afin de vérifier si l'un d'eux ne possédait un pouvoir infectant plus élevé pour le mulot.

Le premier mulot fut inoculé par voie intrapéritonéale avec le broyage d'un cerveau de cobaye qui s'est montré infectant

(1) OLITSKY et LONG. *Journ. exper. med.*, 50, 1929, p. 263; OLITSKY, RHOADS et LONG. *Journ. exper. med.*, 50, 1929, p. 271-585.

chez d'autres animaux; cette injection n'a produit chez lui aucun trouble. Vingt-cinq jours après, le mulot a été tué et un cobaye injecté avec son cerveau n'a pas contracté la maladie.

Les 3 animaux suivants furent inoculés par voie intrapéritonéale, cette fois avec de la macération de la vaginale d'un cobaye de passage, prélevée au début de l'orchite.

Les 4 premiers mulots ne s'infectèrent point puisque leur cerveau s'est montré dépourvu de virus.

Le cinquième mulot fut le seul qui transmit l'infection typhique. Il fut inoculé comme les deux précédents avec de la vaginale de cobaye de passage. Il se comporta apparemment comme les autres animaux en expérience, mais son cerveau inoculé au cobaye lui communiqua un typhus bien caractérisé.

Nous avons alors recherché si un virus développé chez un rongeur ne se multiplierait ou ne se conserverait pas plus facilement chez le mulot.

Un dernier animal fut injecté avec un peu de macération de cerveau d'un rat sauvage typhique. Vingt jours après l'inoculation, nous avons tué le mulot et injecté son cerveau à un cobaye; celui-ci n'a présenté aucune ascension thermique. Il s'est montré dépourvu de toute immunité lors de la réinjection de produits certainement virulents.

Chez tous ces animaux, nous avons recherché la réaction scrotale et l'existence de *Rickettsia* dans la tunique vaginale ou dans les frottis du péritoine. Pas plus chez le mulot infecté que chez ceux qui ne l'étaient pas, nous n'avons trouvé d'éléments rikettsiformes. Quant à la réaction de Weil-Félix, elle fut négative chez tous.

Nous pouvons donc conclure que, malgré sa parenté avec des rongeurs très sensibles au Typhus exanthématique, cette espèce animale est fort peu réceptive pour le virus en question.

SOURIS BLANCHES.

Nos expériences ont été limitées pour la raison que cette question avait déjà été examinée par d'autres auteurs. En réalité, nous avons infecté à diverses dates quelques souris et nous avons fait subir à ce virus des passages en série, ce qui nous

permet de confirmer les conclusions énoncées par les auteurs précédemment signalés.

La réceptivité de ces rongeurs est toutefois moins accusée que celle des rats, étant donné que chez certains nous n'avons pas décelé le virus dans le cerveau. Il semble cependant que le virus, une fois adapté, se transmet plus aisément en série.

SOURIS NAINES (*Mus minutus*.)

Les souris naines, au contraire, se sont montrées spécialement sensibles à ce virus. Sur 15 souris infectées, les unes par

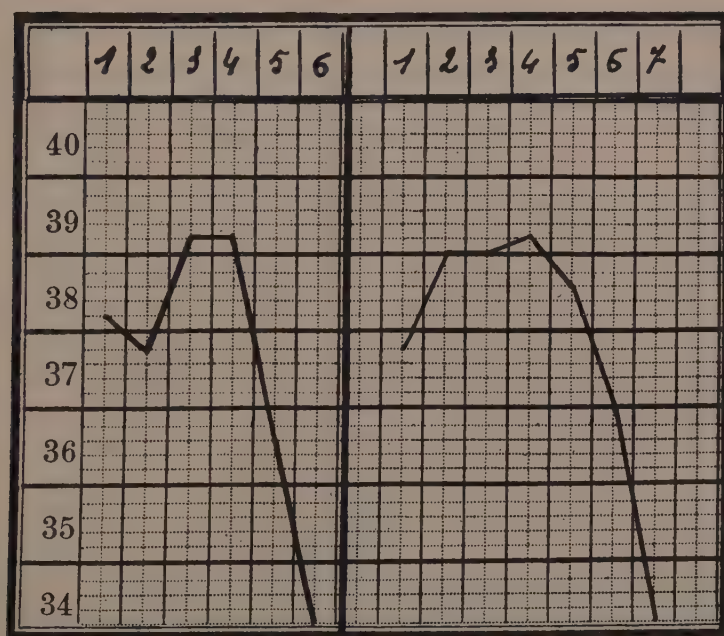


FIG. 3. — Courbe thermométrique de deux souris naines inoculées avec du virus murin.

cerveau, d'autres par vaginale ou par injection de quelques gouttes de sang de cobayes typhiques, 14 ont succombé : les premières huit à dix jours après l'inoculation, les secondes cinq à sept jours. Les frottis du péritoine étaient riches en *Rickettsia* bien distinctes et les cobayes inoculés avec leur cer-

veau ont fait chaque fois un typhus typique comme il a été décrit plus haut.

Quant aux réactions thermiques qui suivent l'inoculation de ce virus, nous avons constaté que, dès le second jour, la température monte d'environ $1^{\circ}5$; s'y maintient durant un ou deux jours, puis subit une baisse rapide, définitive allant jusqu'à 33° environ et se terminant par la mort. Cette courbe thermique a beaucoup de ressemblance avec celle que l'on observe chez les rats blancs.

Bien entendu, nous avons contrôlé chez 3 souris naines normales la courbe thermique, dans le but de ne pas attribuer au virus du Typhus exanthématique des variations qui seraient normales chez ces animaux. Ceux-ci n'ont pas présenté de pareilles variations, leur température oscillant régulièrement autour de $37^{\circ}5$.

Une seule parmi les souris naines en expérience a résisté, ce qui nous incitait à croire qu'elle ne s'était pas infectée. Nous l'avons sacrifiée vingt jours après l'inoculation d'une vaginale de passage. L'autopsie ne montra aucune lésion et dans les frottis aucune *Rickettsia*. Donc, toute trace d'atteinte typhique semblait inexistante ou disparue. Elle se révéla toutefois par la présence dans le sang d'agglutinines vis-à-vis du *Proteus* OX₁₉ actives jusqu'à $1/50$ et par l'infectiosité de la matière cérébrale pour le cobaye.

CAMPAGNOLS (*Arvicola arvalis*.)

Ces animaux s'infectent très facilement par le virus du Typhus exanthématique. Après avoir réalisé chez eux plusieurs séries de passage et contrôlé l'infectiosité de leur cerveau pour le cobaye mâle, nous en avons infecté 4 avec de la macération de vaginale de cobaye typhique dans le but de rechercher si la maladie offrait chez les campagnols des symptômes apparents.

Nous avons pris régulièrement leur température, en même temps que celle de quelques campagnols normaux. La courbe thermique se révéla tellement irrégulière chez les uns et chez les autres qu'il est impossible d'en tenir compte pour dépister l'infection.

Tous ces animaux ont été toujours si aisément infectés qu'au point de vue de leur réceptivité ils se rapprochent beaucoup des souris naines et il est possible que la mort qui suit leur infection typhique soit à mettre sur le compte du virus. Toutefois, nous devons énoncer cela avec certaine restriction, étant donné que les campagnols s'adaptent mal à la captivité et qu'en plus nous avons fréquemment décelé des colibacilles dans le sang des animaux morts.

LÉROTS (*Myoxus nitela.*)

Nous avons fait trois essais d'infection expérimentale chez ces animaux. Deux ont donné un résultat négatif et le troisième un résultat positif. Dans celui-ci le virus fut passé trois fois chez le lérot avec succès et c'est au quatrième passage que le cerveau s'est montré dépourvu de pouvoir infectant pour le cobaye.

Aucun des animaux mâles infectés ne montra de lésions de périorchite et l'examen de frottis de la vaginale ne nous permit pas de déceler des *Rickettsia*.

En ce qui concerne les deux séries négatives, nous ne concluons cependant pas que les animaux furent tous réfractaires, vu qu'il s'agissait de passages en série et qu'il se pouvait fort bien que déjà le premier lérot ne fût pas infecté, car dans ces essais nous n'avions pas contrôlé chez lui la présence du virus.

Nos recherches établissent que le virus murin est susceptible d'infecter la plupart des espèces de rongeurs de notre pays, Ceux-ci ne montrent cependant pas tous la même réceptivité et si nous en jugeons par le résultat des infections en série, le pourcentage des infectés et la gravité de l'infection, nous pouvons les classer dans l'ordre suivant :

Souris naines, campagnols, rats.

Souris grises et blanches.

Lérots.

Mulots.

Comme on peut le constater, cette réceptivité ne suit pas la parenté zoologique de ces rongeurs avec l'espèce rats (*Mus decumanus*), le mulot paraissant nettement plus rapproché de cette espèce que les campagnols et les souris naines.

Nous nous sommes demandé si cette susceptibilité à l'infection se limitait à l'espèce des rongeurs seulement ou si d'autres animaux pouvaient être au même titre récepteurs et disséminateurs de ce virus.

C'est dans ce but que nous avons essayé d'adapter notre souche à des insectivores, notamment le hérisson et à des oiseaux, spécialement le pigeon.

HÉRISSONS.

Nous avons fait deux séries de passage. Le premier hérisson fut injecté avec la vaginale du cobaye n° 136. Son cerveau, prélevé au quinzième jour après l'inoculation, fut injecté à un cobaye et à un hérisson. Le cobaye fit une ascension thermique sans orchite. Cette réaction fut bien de nature typhique car l'animal résista à la réinjection de virus de passage.

Le second hérisson ne survécut que cinq jours à son inoculation et son cerveau ne fut pas injecté au cobaye. Il existe cependant une présomption en faveur de l'infection de cet animal, étant donné que son sérum présenta une réaction de Weil-Félix positive au 1/200.

La seconde série fut également en faveur de l'adaptation facile de ce virus aux hérissons.

En effet, un troisième hérisson ayant subi l'injection d'un peu de macération de vaginale de cobaye de passage fut sacrifié après quinze jours; son cerveau servit à injecter un cobaye mâle et le second hérisson de cette série. La réaction de ce dernier cobaye prouva nettement que les organes du hérisson n° 3 contenaient le virus.

Le hérisson n° 4 qui fut inoculé avec la matière cérébrale du hérisson n° 3 et sacrifié le quinzième jour donna du sérum contenant des agglutinines pour les *Proteus* OX₁₉ à la dose de 1/100 et dans la tunique vaginale on distingua des éléments rikettsiformes.

Le cobaye inoculé avec le cerveau de ce dernier animal a succombé peu de jours après l'injection à une infection microbienne et, par conséquent, il nous fut impossible de contrôler davantage le passage du virus par le cerveau de ces insectivores.

Néanmoins, il ressort nettement de ces expériences que le hérißon présente, vis-à-vis du virus du Typhus exanthématique, une réceptivité au moins comparable à celle de certains rongeurs sensibles à cette maladie.

PIGEONS.

Nous avons essayé d'adapter le virus à 8 pigeons en les répartissant en trois séries.

Un seul, premier d'une seconde série, semble avoir fait une infection typhique. Ceci ne fut point démontré par son comportement, car pas plus chez lui que chez les autres nous n'avons constaté de symptômes extérieurs de maladie. Leur température ne montra à aucun moment une ascension imputable à l'infection typhique, mais varia uniquement dans de larges proportions, suivant que ces oiseaux s'étaient plus ou moins débattus lors de la prise de leur température.

Ce pigeon fut sacrifié vingt jours après l'inoculation de virus dans le péritoine. Le cobaye qui reçu du broyage de son cerveau fit rapidement une ascension thermique persistante accompagnée d'une réaction scrotale unilatérale à partir du quinzième jour. Nous avons prélevé cette vaginale et y avons décelé très nettement des *Rickettsia*. Ce produit a d'ailleurs été inoculé au cobaye 176 et à un quatrième pigeon. Le cobaye 176 a fait une infection que l'on peut qualifier de Typhus exanthématique, puisque les symptômes caractéristiques ont été chez lui très nets.

Malheureusement, les frottis de l'épanchement de la réaction scrotale de ce dernier cobaye, s'ils étaient très riches en *Rickettsia*, montrèrent, en plus de ces éléments, des bacilles que nous avons identifiés aux bacilles pseudo-tuberculeux de Malassez et Vignal. Ceux-ci ont provoqué, dans la suite, une infection générale mortelle qui nous a empêché de faire des essais d'immunité avec le virus de passage.

Mais, étant donné que chez ces deux derniers cobayes nous avons trouvé des cellules de Mooser, il ne semble pas douteux que le pigeon n° 3 ait été infecté et ait fourni un virus transmissible au cobaye.

Les expériences relatées dans la seconde partie de ce cha-

pitre montrent que le virus est susceptible de s'adapter à d'autres espèces animales que les rongeurs et qu'à ce point de vue il n'est guère électif.

Les observations récentes de Lépine (1), Blanc et ses collaborateurs (2), Nicolle et Laigret (3) confirment pleinement ce fait, puisque le premier a fait des passages en série chez le spermophile, Blanc chez l'écureuil de Gétulie et Nicolle et Laigret chez la chauve-souris.

Il est évident qu'il n'y a pas lieu, de ce chef, d'attribuer à tous ces animaux la même importance dans la propagation du virus dans la nature et notamment chez l'homme, l'infection étant dépendante de la réceptivité de l'espèce animale, de la présence ou de l'absence, chez ces animaux, d'ectoparasites susceptibles de propager l'infection aux animaux et éventuellement à l'homme.

II

Dans le premier chapitre, nous avons établi que l'infection typhique pouvait se réaliser chez différents animaux. Mais si cette constatation est sans aucun doute importante, son intérêt pratique se trouverait de beaucoup augmenté si l'on parvenait à démontrer que ces mêmes animaux sont aussi sensibles à une infection naturelle.

Nous avons donc complété cette étude par quelques recherches en vue de déterminer dans quelle mesure les animaux qui s'étaient montrés réceptifs lors des expériences précédentes le seraient si on les soumettait aux formes de contagé que leur offre la nature.

Les voies les plus importantes et peut-être les seules réelles ont été magistralement indiquées par Ch. Nicolle. Ce sont la voie de l'infection directe réalisée par les piqûres ectoparasites et la voie de l'infection indirecte réalisée par la pénétration dans le tube digestif soit de parasites de ces animaux, soit de tissus infectés provenant de leurs congénères morts atteints de cette maladie.

(1) P. LÉPINE. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 195, 1922, p. 189.

(2) *C. R. Soc. Biol.*, 115, fasc. 1, 1934, p. 8.

(3) *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, 22, n° 4, 1933, p. 491.

Étant donné le nombre et la diversité des parasites qu'hébergent la fourrure des rongeurs, il est évident que leur rôle dans la transmission des maladies de leur hôte doit être considérable, pour autant, bien entendu, que ces parasites soient aptes eux-mêmes à propager le mal.

Les travaux de Ch. Nicolle, suivis de ceux de Mooser, établissent d'une façon indubitable que le pou et la puce sont les agents propagateurs, le premier surtout en ce qui concerne le typhus épidémique, le second en ce qui concerne le typhus endémique.

Le pou notamment joue un rôle plus particulier, vu que le virus subit en lui une véritable multiplication déterminant une maladie mortelle après peu de jours.

La puce portant par la piqûre le virus d'un animal à l'autre semble jouer un rôle plus mécanique. Mooser la considère cependant comme le vecteur primitif qui, contrairement au pou, serait devenu depuis longtemps résistante à l'infection.

Les tiques, quoi qu'elles transmettent aisément les virus de la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses, semblent n'avoir jamais été citées comme vecteurs du virus du Typhus exanthématique.

Bruynoghe et Jadin (1) ont réussi facilement à infecter des cobayes par l'injection dans le péritoine de broyage de poux prélevés sur des rats et des campagnols typhiques.

Les résultats ayant été constamment positifs, nous n'avons pas poursuivi cette recherche. Mais nous avons prélevé les parasites des animaux dont nous avons nous-même démontré la réceptivité au virus.

Les puces des hérissons ne furent trouvées infectées que chez l'animal n° 4. Leurs tiques prélevées le jour de la mort des animaux parasités n'étaient pas porteuses de virus.

Les gamasides des souris naines, malgré l'infection grave de ces dernières, non seulement ne transportèrent pas le virus sur une souris naine, mais ne furent elles-mêmes jamais trouvées infectantes.

Nous devons cependant faire remarquer que, dans les recherches relatées ici, comme dans d'autres, l'injection de ces

(1) R. BRUYNOGHE et J. JADIN. *Arch. Intern. Méd. Expér.*, 8, fasc. 3, 1933.

parasites au cobaye a été bien souvent suivie d'une ascension thermique assez longue. Il importe donc de faire chaque fois une vérification soigneuse pour ne pas confondre éventuellement cette réaction avec celle qui existe dans le Typhus exanthématique.

La transmission de la maladie d'un animal à l'autre par la piqure de leurs ectoparasites est certainement un mode fréquent de contagion, mais la pénétration du virus par les voies digestives est au moins d'une aussi grande importance, vu que les rongeurs se mangent fréquemment entre eux et dévorent leurs propres ectoparasites, au point que l'on peut se demander si la nature n'emprunte pas le plus souvent cette voie, réalisant des infections discrètes qui infectent l'animal d'une façon sournoise et assure ainsi la conservation et l'extension de ce mal.

Tout récemment, Ch. Nicolle, J. Laigret et P. Giroud (1) les premiers, ont signalé que les rats sont réceptifs au virus du Typhus exanthématique par voie digestive.

A ce moment, nous avons entrepris des recherches similaires sur toute une série d'animaux réceptifs à cette maladie et nous notons ci-dessous les résultats qu'elles nous ont donnés.

Nos expériences ont été faites toujours d'après la même technique. Comme organe infectant, nous avons utilisé la vaginale de cobayes de passage déposée sur du pain imbibé d'eau de macération de cet organe. Chaque animal était isolé et privé de nourriture jusqu'à ce qu'il eût consommé le repas infectant.

RATS BLANCS.

Nous n'avons fait que quelques essais pour la raison que Nicolle et ses collaborateurs ont rapporté le protocole de toute une série d'expériences de l'espèce. Ils ont constaté que les rats blancs s'infectent effectivement par le tube digestif et contractent dans ces conditions une infection inapparente qui contraste singulièrement avec celle produite par ce même virus administré par voie intrapéritonéale.

Nos essais confirment cette constatation notamment en ce qui

(1) Ch. NICOLLE, J. LAIGRET, P. GIROUD. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, **22**, n° 3, 1933, p. 326.

concerne l'évolution clinique de l'infection ainsi opérée. En effet, tous les rats blancs nourris avec des vaginales infectées sont restés indemnes de manifestations extérieures de maladie et même, contrairement aux expériences de Nicolle, où tous les rats se sont infectés par ingestion de virus murin, nous devons admettre que quelques-uns de nos animaux sont restés indemnes de typhus, puisque, sacrifiés dans la suite, leur cerveau n'a pas provoqué la maladie chez les cobayes et ne leur a pas conféré d'immunité vis-à-vis du virus de passage.

Dans les recherches de Ch. Nicolle, il est assez étrange que, après passage par le tube digestif du rat, le virus se comporte comme s'il avait subi une atténuation réelle. En effet, les cobayes ayant reçu le cerveau de ces rats ne réagissent pas de façon caractéristique.

Nicolle relate dans les protocoles de ces expériences que la moitié des cobayes ainsi inoculés ont fait un typhus inapparent et l'autre moitié une maladie uniquement fébrile.

Si, dans la nature, le virus devait toujours se comporter de la sorte, il est vraisemblable que ce mode de propagation ne serait pas très efficient. En effet, si le passage par voie digestive atténue le virus pour le cobaye et éventuellement aussi pour les autres animaux réceptifs ainsi que pour l'homme, le virus perdrait de ce fait beaucoup de son pouvoir pathogène.

Cependant, les résultats enregistrés dans des expériences semblables avec les rats sauvages et les autres animaux réceptifs montrent nettement que cette éventualité ne se réalise pas et que, par conséquent, ce mode d'infection peut largement intervenir dans la nature pour propager le Typhus exanthématique.

RATS SAUVAGES.

5 animaux ont été soumis à l'épreuve indiquée ci-dessus. 4 se sont infectés, en ce sens que la macération de leur cerveau, prélevé du quinzième au dix-neuvième jour après le repas infectant, inoculé dans le péritoine de cobayes, a conféré à ceux-ci un typhus bien caractérisé par l'ascension thermique et la réaction scrotale de durée normale. Un seul est resté indemne et, de ce fait, son cerveau s'est montré non infectant pour le cobaye. Ce dernier animal a été inoculé dans la suite

avec le virus de passage et s'est comporté comme normalement réceptif, ce qui exclut donc l'infection inapparente. Ce résultat peut cependant être critiqué, car les 2 premiers rats ont été nourris le même jour dans la même cage et cette erreur peut être cause de ce que l'un des deux ne se soit pas infecté.

Nous avons examiné à tous moments le comportement de ces rats et nous n'avons remarqué aucun signe extérieur de maladie. Ces expériences confirment donc celles de Ch. Nicolle en ce qui concerne le passage du virus à travers le tube digestif. Mais au point de vue de la virulence, nous n'avons observé aucune atténuation chez le cobaye qui servit de contrôle.

SOURIS BLANCHES ET GRISES.

Ces animaux se sont montrés totalement réfractaires à ce procédé d'infection.

Onze souris ont été nourries et aucune d'elles ne s'est infectée, car l'inoculation de leur cerveau au cobaye n'a pas été suivie de réaction scrotale ni de réaction thermique. Nous avons cependant bien vérifié que chaque animal absorbât de la nourriture infectante et fût sacrifié dans un délai déterminé.

SOURIS NAINES.

La sensibilité de ces petits rongeurs s'est montrée ici aussi grande que par l'inoculation directe de ce virus. Ils ont présenté les mêmes symptômes après le même délai et la mort est apparue dans des conditions semblables.

Six souris naines ont été soumises à l'épreuve :

La souris naine n° 1 a été sacrifiée après huit jours.

La souris naine n° 3 morte après sept jours.

La souris naine n° 4 morte après sept jours.

La souris naine n° 5 morte après huit jours.

La souris naine n° 6 morte après quatre jours.

Les cobayes qui ont servi à dépister les virus chez quelques-unes d'entre elles ont tous fait le typhus, sauf l'animal inoculé avec le cerveau de la première souris naine : ce cobaye ne fit

ni réaction thermique ni réaction scrotale, et il se comporta comme un animal normal lors de la réinjection de virus de passage.

CAMPAGNOLS.

La même remarque s'impose pour les campagnols. Ces animaux ont fait à la suite de l'ingestion de matière infectante, une infection qui a entraîné la mort, comme nous l'avions constaté chez les animaux inoculés par voie directe.

Voici quelques précisions au sujet de cette expérience.

Campagnol 1. — Nourri avec la vaginale 167. Il meurt le onzième jour et son cerveau est injecté au cobaye 219.

Cobaye 219. — Injecté avec le cerveau du campagnol nourri n° 1; vers le douzième jour ascension thermique qui se maintient huit jours avec une très légère orchite. Prélèvement de la vaginale le quatorzième jour. Dans le frottis, beaucoup d'éléments rickettsiformes.

Campagnol 2. — Nourri de la vaginale 167. Sacrifié le vingt-deuxième jour; son cerveau est injecté au cobaye 225.

Cobaye 225. — Injecté avec le cerveau campagnol nourri n° 2. Ascension thermique du quatrième au huitième jour. Pas d'orchite. Réinjecté le vingt-deuxième jour il ne réagit plus.

Campagnols 3 et 4. — Nourris de la vaginale 231 meurent le onzième jour; leur cerveau n'a pas été injecté.

Il faut pourtant remarquer que si l'infection semble aussi fréquente chez le campagnol infecté par voie digestive que chez celui inoculé par voie péritonéale, il peut cependant exister une différence, car les cobayes de contrôle ont fait chaque fois un typhus plus ou moins atténué, représenté uniquement par la température élevée durant quelques jours sans réaction scrotale bien évidente.

En examinant dans l'ensemble le comportement de ces rongeurs infectés par voie directe et par voie indirecte, la concordance entre la réceptivité générale et la susceptibilité d'infection par voie digestive s'impose. Si l'on classe ces animaux par intensité et constance de réaction, le tableau indiqué dans le premier chapitre peut se reproduire ici. Signalons toutefois que l'infection qui suit l'inoculation du cerveau des animaux ainsi contaminés, est parfois plus atténuée que dans les inoculations directes. Il est difficile de se prononcer, s'il s'agit en l'occurrence d'atténuation du virus ou d'une infectiosité moins intense des organes de ces animaux.

HÉRISSONS.

Deux animaux ont été soumis à l'épreuve de l'ingestion de matière infectante. Il est vraisemblable que les deux se sont infectés étant donné que leur sang a acquis un certain pouvoir agglutinant vis-à-vis du *Proteus* OX₁₀, propriété que leur sérum ne possédait pas avant le repas en question.

Toutefois ce fut seulement chez l'un de ces animaux que le cerveau fut trouvé infectant pour le cobaye et occasionna une élévation thermique accompagnée d'une légère péri-orchite dont l'exsudat contenait de nombreuses *Rickettsia*.

LAPINS.

La réceptivité de ces animaux au virus du Typhus exanthématique a été établie déjà par plusieurs auteurs et entre autres par Lépine (1) qui a constaté chez eux à la suite de l'inoculation de virus une ascension thermique et un Weil-Felix positif.

Nous avons nourri 2 jeunes lapins avec la vaginale de cobaye de passage, puis nous les avons surveillés tant au point de vue de la température que de la réaction scrotale. En réalité ces animaux n'ont rien présenté qui nous permette de dire qu'ils furent infectés et leur sang s'est montré dépourvu d'agglutinines pour le *Proteus* OX₁₀.

Toutefois, leur cerveau inoculé à des cobayes, a produit chez l'un d'eux une infection typhique bien caractérisée et chez l'autre une poussée thermique sans réaction scrotale, élévation thermique que nous avons considérée comme d'origine typhique, étant donné que dans la suite l'animal s'est montré réfractaire au virus de passage.

COBAYES.

Enfin, pour terminer nos recherches au sujet de l'infection des animaux par voie digestive, il nous a paru intéressant de voir comment le cobaye, qui constitue l'animal de diagnostic

(1) P. LÉPINE. Ces *Annales*, 51, n° 3, 1933, p. 313.

des différents virus et leur réservoir expérimental, réagit à une infection par une voie différente.

4 cobayes ont été nourris avec du pain contaminé par le virus du Typhus exanthématique. Ils ne présentèrent à la suite de ce repas ni réaction thermique, ni réaction scrotale et leur sang prélevé environ quinze jours après cette ingestion, inoculé à d'autres cobayes, n'occasionna aucune manifestation du typhus. Il en fut de même du cerveau d'un des cobayes.

Dans le but de contrôler l'existence de l'infection inapparente, les 3 cobayes restés en vie ont été inoculés dans la suite avec le virus de passage; 2 se sont infectés normalement et le troisième s'est montré totalement réfractaire au virus. Ce résultat nous permet d'admettre que ce cobaye a vraisemblablement fait, à la suite du repas infectant, un typhus inapparent qui lui a conféré cette résistance.

Ces dernières recherches montrent que le cobaye s'infecte difficilement par voie digestive. Il semble bien, comme Nicolle le dit si justement, que le cobaye ne constitue qu'un intrus dans le domaine du Typhus exanthématique et qu'il ne se montre sensible qu'à l'inoculation directe expérimentale.

III

On sait que l'inoculation de virus exanthématique dans l'intestin du pou détermine chez celui-ci, outre la mort dans un délai variant avec le type du virus inoculé, une multiplication rapide et très importante de microorganismes allongés, ressemblant à des bacilles, mais plus petits, plus graciles et se colorant difficilement : ce sont les *Rickettsia*.

On sait aussi que chez certains animaux sensibles à ce virus, il se développe parallèlement à la maladie, de petits éléments pareils aux *Rickettsia* des poux. Ils s'y rattachent par leur forme, leur comportement, leur origine et leur multiplication.

En 1910 déjà, Ricketts (1) les signalait dans le sang de ses malades atteints de Typhus exanthématique et dans les organes

(1) RICKETTS et WELDER. *Journ. Amer. Med. Assoc.*, Chicago, liv. 1304.

et les déjections de leurs poux. Vers 1913, Provazek (1) les retrouve dans les viscères du pou et les décrit également dans les leucocytes du sang des typhiques. Puis d'autres auteurs les ont observés dans le matériel typhique à leur disposition.

Mooser, cependant, fut le premier à attirer l'attention sur l'abondance de ces organismes dans les cellules endothéliales de la tunique vaginale des cobayes et des rats infectés de virus murin du Mexique.

Après la belle description et la mise au point de cet auteur, ces éléments, développés chez les animaux typhiques, à l'exception toutefois du pou, furent appelés « corps de Mooser ».

Dans la suite, ces mêmes formations furent décrites chez des animaux infectés par d'autres souches de virus exanthématique, et les études de Mooser et Dummer (2) d'une part, de Rudolf Weigl et M^{lle} Hertzig (3) d'autre part, conduisirent à admettre comme identiques les corps de Mooser et les *Rickettsia*.

Nos recherches ne résolvent pas la question de la nature, de la valeur étiologique et infectieuse de cet élément; nous nous bornons simplement à dire ce que nos expériences nous ont permis de constater et nous insistons sur le fait qu'il peut exister chez le cobaye des formations analogues aux *Rickettsia prowazeki* et qui n'ont certainement aucun rapport avec le Typhus exanthématique.

Tous nos cobayes morts étaient soumis à leur décès à un examen approfondi au point de vue de la présence éventuelle de *Rickettsia* dans les organes. Nous sommes parvenus ainsi à découvrir chez un lot de cobayes non infectés de Typhus exanthématique, une affection caractérisée par des poussées assez longues de température élevée (environ 40°) suivies de guérison ou d'hypothermie entraînant la mort, mais dont l'intérêt résidait surtout dans ce fait que les frottis montraient de très nombreux éléments susceptibles d'être facilement confondu avec les *Rickettsia* typiques de la fièvre exanthématique. Une étude plus approfondie permit de constater qu'elles s'en distinguaient, étant

(1) C. HEGLER et VON PROVAZEK. *Berl. Klin. Wochenschr.*, I, n° 44, 2035; VON PROVAZEK. *Beitrage zur klinik der Infektionskrankheiten und zur Immunitätsforschung*, 5, 1915-1916.

(2) MOOSER et C. DUMMER. *The Journ. of Exp. Med.*, 51, 1930.

(3) RUDOLF WEIGL et M^{lle} HERTZIG. *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, 22, n° 3, 1933, p. 321.

répandues d'une façon plus uniforme entre les cellules.

Jamais nous n'avons découvert de cellules bourrées, analogues à la cellule de Mooser et, surtout, leur forme mieux analysée paraissait différente. Les *Rickettsia* sont allongées et colorées aux deux extrémités ; celles-ci étaient plus rondes et semblaient uniformément colorées.

Ajoutons que l'autopsie suivie de l'ensemencement des organes sur différents milieux ne permit pas d'isoler des microbes. Nous avons essayé de transmettre la maladie en injectant, à des cobayes paraissant indemnes, du broyage de différents organes d'animaux malades. Nous les avons surveillés pendant plusieurs semaines et n'avons rien remarqué d'anormal. L'étude n'a pas été poursuivie plus loin, elle nous a incitée à rechercher avec plus de méfiance la présence de *Rickettsia*, à n'admettre comme telles que des éléments dont les caractères étaient bien établis et à poser une fois de plus le problème de la valeur étiologique de la *Rickettsia* dans le Typhus exanthématique.

Chez tous nos animaux, nous avons mis des *Rickettsia* en évidence de la même manière, c'est-à-dire que tous les frottis furent colorés par la méthode de May-Grunwald Giemsa légèrement modifiée.

Les frottis, après dessiccation, sont d'abord recouverts d'une couche de May-Grunwald pendant trois à quatre minutes, après quoi nous ajoutons une quantité égale d'eau distillée dont le pH a été rigoureusement ramené entre 7,2 et 7,4. On l'y laisse une minute. Ensuite les frottis sont placés durant trois à quatre heures dans une solution contenant XL gouttes de Giemsa pour 25 cent. cubes d'eau. Après cette dernière opération, ils sont passés très rapidement dans une solution d'eau distillée et immédiatement séchés au buvard.

Cette méthode de mise en évidence des *Rickettsia* nous a permis de faire les remarques suivantes :

1° La vaginale de cobaye est très riche en éléments rikettsi-formes au début de l'orchite. Ceux-ci disparaissent plus vite que les signes extérieurs de l'orchite. Leur abondance n'est nullement liée à la tuméfaction de l'organe, car nous avons souvent remarqué qu'une très forte tuméfaction correspondait à peu de *Rickettsia* dans les frottis mais que, par contre, lorsque la vaginale était très hémorragique, même si extérieurement

l'orchite n'était pas marquée, les frottis en étaient très riches.

2°. Chez les rats nous avons, comme tous les auteurs, régulièrement pu les mettre en évidence, soit dans la vaginale chez les mâles, soit dans le péritoine chez les femelles.

Cependant, nous faisons remarquer que, contrairement à

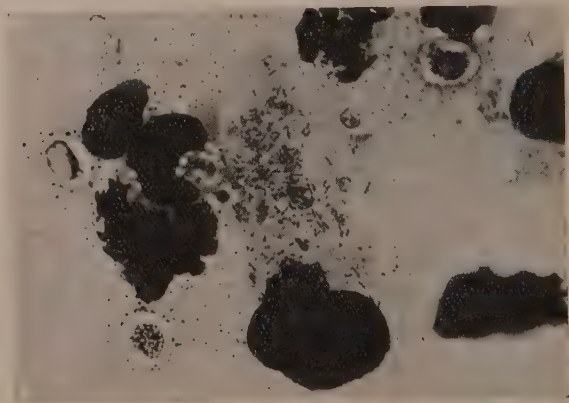


FIG. 4.

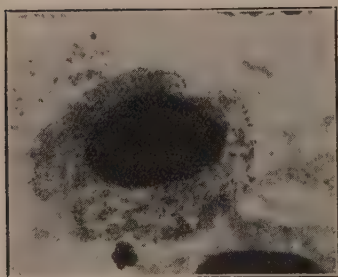


FIG. 4 bis.

FIG. 4 et 4 bis. — *Rickettsia* dans un frottis de vaginale de cobaye (cellule de Mooser).

l'opinion de Mooser, il n'est pas nécessaire que l'animal ait été injecté dans le péritoine avec la matière infectante pour y trouver des *Rickettsia*, car nous avons décelé chez des rats nourris d'aussi nombreuses *Rickettsia* dans le péritoine que chez ceux qui avaient été injectés.

3° Les frottis de vaginale ou de péritoine de la souris naine,

tant chez celle qui a été infectée par voie digestive que chez celle inoculée par voie péritonéale, foisonnent de *Rickettsia*.

Elles y sont tout à fait caractéristiques, un peu plus ténues encore que celles que l'on trouve chez les cobayes mais à certains endroits très denses, serrées les unes contre les autres.

4° Nous avons recherché leur présence chez tous les animaux en expérience; nous n'avons jamais réussi à les mettre en évidence ni chez le lérot, qui s'est cependant infecté, ni chez le mulot et le campagnol; celui-ci fit néanmoins une maladie très

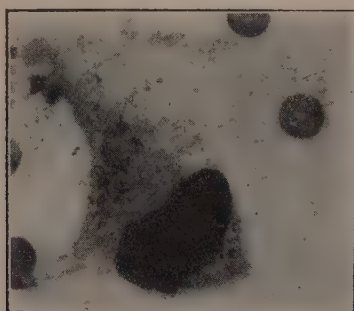


FIG. 5. — *Rickettsia* dans un frottis de péritoine de souris naine (cellule de Mooser).

grave. Chez le hérisson seulement nous avons réussi à retrouver des *Rickettsia* dans les frottis du péritoine.

5° Quant au pouvoir infectant des *Rickettsia*, nous avons constaté dans nos essais qu'il semble exister un parallélisme net entre l'infectiosité du produit et sa richesse en *Rickettsia*. Wolbach (1) a également démontré ce rapport. Cette constatation, qui plaidait en faveur du rôle étiologique des dits éléments, fut toutefois controuvée par les essais de filtrabilité du virus. En effet, l'épanchement de la périorchite dilué dans de l'eau et filtré sur la bougie L 4 s'est montré aussi infectant que le produit non filtré. Nous avons contrôlé le filtrat au point de vue du passage de microbes et, surtout, nous nous sommes efforcés de rechercher la présence de *Rickettsia*. Le fait que

(1) S. B. WOLBACH, John L. TODDAND, FRANCIS PALFREY, Published by the league of red cross societies and the Harvard University press. Cambridge. *The Etiology and Pathology of Typhus*, mars 1922.

cette investigation fut négative ferait penser que la *Rickettsia* ne réalise peut-être pas encore la forme la plus pathogène de l'agent du Typhus exanthématique.

Nos essais de filtration et leurs résultats sont tout à fait conformes aux recherches d'Olitsky (1) et à celles de Hach (2).

6° Nos animaux étant parasités par bien des organismes nous avons recherché, outre leur pouvoir d'infection et de transmission de la maladie, la présence éventuelle de *Rickettsia*.

Chez le pou, cette mise en évidence est rendue difficile par la présence habituelle et fréquente d'éléments rikettsiformes

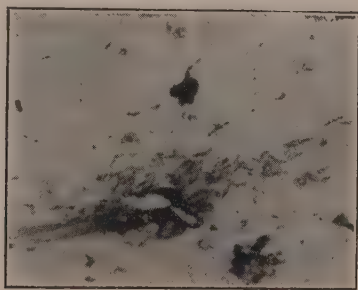


FIG. 6. — *Rickettsia* dans un frottis de pou.

non pathogènes, appelés par Munck et Da Rocha Lima (3), *Rickettsia pediculi*.

En tenant compte de cette remarque, nous avons constaté la présence de *Rickettsia prowazeki* fréquemment chez les poux prélevés sur différents de nos animaux typhiques et, lorsque nous injectons le broyage des congénères immédiats de ces poux, le cobaye fit une infection caractérisée.

Jamais la présence de *Rickettsia* ne s'est révélée chez les puces ni de souris, ni de lérots, ni de hérisson, alors que la maladie de ces différents animaux était certaine et avait été contrôlée.

(1) OLITSKY. *Journ. of Exp. med.*, 121, 1922; *ibid*, 1922, p. 469.

(2) HACH. *Zeitschr. f. Hyg.*, 106, 1926, p. 221.

(3) MUNCK et DA ROCHA LIMA (H.), *Klinik und Aetiologie des sogen « Wolhynischen Fiebers »*. II Ergebnis der aetiologischer Untersuchungen und deren Beziehungen zur Fleckfieberforschung. *Münch. med. Wochenschr.*, 26, n° 44, 1917, p. 1422.

Par contre, les frottis faits avec le broyage de gamasides, petits acariens qui parasitaient fréquemment la souris naine, ont été trouvés farcis de *Rickettsia* bien nettes et typiques; cependant, jamais nous ne sommes parvenus à faire passer le virus par ces acariens. Peut-être s'agit-il d'autres *Rickettsia* dont les caractères morphologiques seuls sont pareils à ceux de la *Rickettsia* du Typhus exanthématique.

Nous avons aussi essayé de cultiver l'agent du Typhus exanthématique sur des milieux artificiels. Jusqu'ici, ces tentatives n'ont guère donné de résultat.

Des auteurs tels que Ilschen Yu (1), Pinkerton et Hass (2) sont

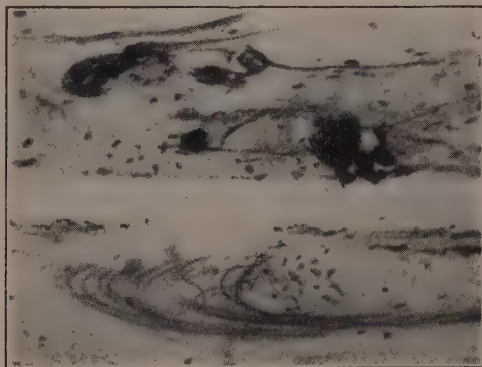


FIG. 7. — *Rickettsia* dans un frottis de gamaside.

parvenus à obtenir une multiplication du virus sur des tissus.

Wolbach (3) et ses collaborateurs ont essayé en vain la culture anaérobie du sang de leurs malades sur milieu gélose-ascite glucosé, suivant la méthode de Plotz, Olitsky et Baehr (4). D'autre part, Silber et Dossière (5) publient des résultats positifs obtenus par culture sur bouillonensemencé de la levure : *Torula kephir*.

(1) ILSCHEN YU. *Centralbl. f. Bact.*, **134**, 1932, p. 481 et 411.

(2) HENRY PINKERTON et HASS *Journ. exper. Med.*, **54**, 1931, p. 307; *id.*, **66**, 1932, p. 131 et 145.

(3) WOLBACH. *Loco citato*, p. 113.

(4) PLOTZ, OLITSKY et BAEHR (1915), The Etiology of Typhus fever. *Journ. of Infect. Dis.*, **17**, n° 1, p. 1-68.

(5) SILBER et DOSSIÈRE. *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, **22**, n° 4, 1933, p. 477.

Nous nous sommes servis de cette dernière méthode.

Dans un premier essai nous avons ensemencé à l'anse, d'une manière aseptique, une trace d'exsudat de vaginale de cobaye de passage dans des cultures de quatre différentes espèces de *Torula* ayant séjourné vingt-quatre heures à l'étuve.

Nous les avons repiquées pendant cinq jours et le cinquième nous avons injecté dans le péritoine d'un cobaye 4 cent. cubes du mélange tel quel, de ces quatre cultures, et à un autre 4 cent. cubes de ce mélange filtré sur L4.

Aucun des cobayes n'a réagi à l'injection. Lors de leur réinoculation par du virus de passage, le premier fit un typhus typique, le second ne réagit pas. Cette absence de réaction ne présente aucune valeur car si le filtrat vaccinait, le mélange tel quel aurait dû le faire. Il faut admettre que le cobaye fit un typhus inapparent à la suite de la réinoculation.

D'autre part, il est possible aussi qu'on ait affaire à un animal qui aurait contracté un certain degré d'immunité par l'inoculation de ce produit. Nicolle (1) a signalé que l'inoculation de cultures de bacilles paratyphiques tels quels ou associés aux bacilles de la pseudo-tuberculose confère parfois une certaine immunité. Il se peut donc que l'injection du mélange de *Torula* ait produit chez l'un des cobayes inoculés une immunité similaire.

Ce premier échec nous fit reprendre exactement la méthode décrite par Silber et Dossière. A chacune de nos souches de *Torula*, nous avons ajouté, après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve, un peu d'exsudat de la vaginale de cobaye de passage. Huit jours plus tard, les cultures furent transportées sur du bouillon sans levure et repiquées tous les jours. Le cinquième jour, nous avons injecté à un cobaye un peu de virus cultivé sur *Torula kephir* et à un second cobaye celui cultivé sur le *Saccharomyces* du muguet et sur deux autres souches encore.

Ces animaux firent dès le lendemain une ascension thermique qui persista plusieurs jours et qui ne put être attribuée à la présence du virus dans les tubes de culture, vu que, à la réinjection, aucun cobaye ne se montra immun et que les symptômes

(1) Ch. NICOLLE et H. SPARROW. Sur une épizootie de bacilles pseudo-tuberculeux chez le cobaye observée à Tunis. Son arrêt par la vaccination. *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, 47, n° 4, 1928, p. 338.

essentiels du typhus, c'est-à-dire la température élevée et la périorchite ont apparu exactement dans le même délai que pour le cobaye inoculé simplement avec l'exsudat de la vaginale du cobaye de passage.

Nous n'avons donc pas réussi à cultiver le virus par cette méthode et nous nous demandons si les résultats obtenus par Silber et Dossière ont été suffisamment contrôlés. La preuve de l'infection inapparente du cobaye ne peut être faite que par la réinjection avec le virus de passage. Or celle-ci, d'après la publication de Silber et Dossière, semble ne pas avoir donné de résultats nets. Ces auteurs se sont surtout basés sur la réaction thermique qui a suivi l'inoculation de leur culture, mais elle peut être attribuée aux *Torula* elles-mêmes.

Le passage en série prête la même critique, car dans nos expériences le cobaye qui a reçu le sang du cobaye inoculé avec la culture de *Torula* a présenté également une fièvre persistante de plusieurs jours; cependant, lors de la recherche de l'immunité, il s'en est trouvé complètement dépourvu.

IV

Weil et Felix ont décelé chez le typhique la présence d'anticorps actifs vis-à-vis du *Proteus* OX₁₉. Cette réaction, à laquelle on attribue communément une haute valeur diagnostique, a été interprétée de diverses façons. Les auteurs ont formulé des hypothèses nombreuses et variées pour expliquer son mécanisme. Nous retiendrons volontiers la théorie de Weil et Félix qui affirment que cette agglutination serait plutôt à considérer comme une espèce de coagglutination, le virus exanthématique possédant un antigène identique à l'antigène O (thermostable du *Proteus* OX₁₉). D'autres auteurs ont considéré le *Proteus* OX₁₉ comme l'agent pathogène du typhus. Leurs recherches n'ont pas été confirmées.

Pour Nicolle, le *Proteus* serait une forme saprophyte de l'agent étiologique du Typhus exanthématique. Mais l'auteur qui semble s'attarder le plus à cette opinion est certainement Fejgin (1) qui, dans plusieurs publications, insiste sur le fait

(1) FEJGIN. *C. R. Soc. Biol.*, **93**, 1923, p. 1396; **95**, 1926, p. 1208; **96**, 1927, p. 339.

que le virus du Typhus exanthématique ne serait qu'une variation d'une souche spéciale du bacille *Proteus*. Il est d'ailleurs d'accord en cela avec Kuczynski (1) qui a isolé du cerveau de cobayes typhiques sur milieux spéciaux des souches microbiennes qu'il considère comme des variations du virus. Friedberger (2), tout comme Fejgin, affirme que le *Proteus* prend dans le typhus une forme d'évolution spéciale qui n'est ni visible, ni cultivable, il appuie aussi la conception que toutes ces bactéries proviennent de la même espèce.

Quoi qu'il en soit, il semble bien que cette réaction ait pour cause la parenté antigénique du *Proteus* et de la *Rickettsia prowazeki*. Peut-être même que ce rapport est influencé par un troisième facteur inconnu, lié à l'espèce animale, étant donné que chez les uns la réaction est constamment positive et que chez d'autres, qui ont certainement fait la maladie, nous n'avons jamais trouvé trace d'agglutinines dans leur sang. Cette absence pourrait éventuellement s'expliquer par le fait que les dits animaux détiennent dans leurs organes un antigène commun ou rapproché de celui qui intervient pour assurer l'élaboration de ces agglutinines.

Les derniers travaux de Durand (3) feraient croire que des techniques plus appropriées pourraient déceler cette agglutinine chez tous les animaux typhiques et spécialement chez le cobaye qui, jusqu'ici, a toujours été considéré comme ayant un Weil-Felix négatif. Mais, les substances ajoutées au virus, pour que, au cours de l'infection, les agglutinines en question se produisent, peuvent éventuellement intervenir comme telles pour assurer cette production.

Dans nos recherches, nous avons systématiquement examiné le sang des animaux en expérience au point de vue de leur teneur en substances actives vis-à-vis du *Proteus* OX₁₉, des collections de l'Institut Pasteur de Paris.

Nous indiquons dans le tableau ci-dessous la répartition et la fréquence des résultats positifs obtenus :

(1) KUCZYNSKI. *Virchow's archiv. für Pathol. Anat. u. Physiol. u. f. Klin. med.*, 272, 3, 1923, p. 353.

(2) E. FRIEDBERGER MEISNER. *Klin. Woch.*, n° 10, 1923.

(3) R. DURAND. *C. R. Soc. biol.*, 116, n° 17, 1934, p. 118.

	NOMBRE D'ANIMAUX examinés	RÉSULTATS
Rats blancs infectés	7	5
Rats sauvages	5	2
	3 après 6 mois.	0 après 3 mois.
Souris	12	0
Souris naines injectées	15	1
Lérots injectés	7	4
Campagnols injectés	10	0
Mulots injectés	5	0
Lapins injectés	4	2
Hérissons injectés	4	3
Rats blancs nourris	2	0
Rats sauvages nourris	3	0
Souris nourries	"	"
Souris naines nourries	6	0
Campagnols nourris	4	0
Lapins nourris	2	0
Hérissons nourris	2	2

C'est chez le rat injecté que nous avons trouvé la réaction le plus souvent positive et tout particulièrement chez le rat blanc, pour peu cependant que la maladie fût d'assez longue durée et que l'animal ait pu élaborer de tels anticorps.

Nous remarquons également que la réaction n'est pas aussi fréquemment positive chez le rat sauvage et cela, bien que les recherches subséquentes nous aient permis de mettre en évidence le haut pouvoir pathogène du cerveau de ces rats.

Si l'on tient compte que nombre de rongeurs ne produisent pas d'agglutinines au cours de leur infection, il est évident que la réaction de Weil-Félix ne constitue qu'une épreuve bien insuffisante pour déceler le Typhus exanthématique chez les rongeurs.

Il est plus que probable que la souris naine élabore aussi dans son sang les substances anti-*Proteus* OX₁₉, car chez la seule souris qui ait survécu à l'infection nous avons trouvé le Weil-Félix positif. L'absence de ces agglutinines chez les autres était due probablement à la mort qui survenait trop rapidement et ne leur laissait pas le temps de former ces anticorps.

Les campagnols, bien que très sensibles au typhus, ont toujours un Weil-Félix négatif, quelle que soit la voie d'infection, digestive ou péritonéale.

Chez le léroty, la réaction positive semble être une exception

puisque sur toute la série d'animaux qui se sont infectés, nous n'avons trouvé qu'une seule fois la présence d'agglutinines anti-*Proteus* OX₁₉ dans le sérum.

Pour les lapins, nous avons observé une différence entre ceux qui avaient été inoculés et ceux qui avaient été nourris. Les premiers ont fait un Weil-Félix net, chez les seconds la réaction fut négative.

Cette remarque, ajoutée à celles que nous avons faites précédemment, permettrait une fois de plus d'admettre que la voie digestive, laissant passer moins de virus, réaliserait une infection dans certains cas plus bénigne, stimulant moins l'organisme à la défense.

Le hérisson, animal très réceptif, a toujours présenté dans le sang des agglutinines vis-à-vis du *Proteus* OX₁₉. La réaction était à peu près aussi forte chez le hérisson infecté par voie digestive que chez les animaux inoculés par voie péritonéale. Bien entendu nous avons recherché dans le sang de ces animaux la présence des anticorps avant l'inoculation du virus et nous n'avons pu les mettre en évidence.

Enfin, notons que les personnes vaccinées au moyen de suspension de *Rickettsia* de poux, présentent pour la plupart des agglutinines vis-à-vis du *Proteus*. La relation *Rickettsia*-bacille *Proteus* apparaît, ici encore, d'une façon évidente.

Ci-dessous le résultat des réactions de Weil-Félix faites chez quelques-uns des vaccinés fréquentant le laboratoire :

R. B...	—.
J. C...	$\frac{1}{250}$.
M. R...	$\frac{1}{200}$.
L. D...	$\frac{1}{50}$.
G...	$\frac{1}{200}$.
M. D...	$\frac{1}{100}$.
G. B...	$\frac{1}{100}$.

Cependant, il n'y a point parallélisme entre la présence d'anticorps actifs vis-à-vis du *Proteus* et les substances viruli-

cides, car nous avons constaté que des sérums qui étaient dépourvus d'agglutinines anti-*Proteus* OX₁₉ neutralisaient parfaitement le virus dans les infections expérimentales et le faisaient plus énergiquement que certains sérums pourvus des agglutinines en question.

D'autre part, les sérums privés d'agglutinines par contact avec une émulsion de *Proteus* tués conservent parfaitement leur pouvoir virulicide. Ceci indique nettement l'indépendance des agglutinines anti-*Proteus* et des substances agissant spécifiquement sur le virus.

L'immunité dans les affections à virus semble différente de celle que l'on observe dans les infections microbiennes.

Dans la plupart des maladies à virus, la vaccination n'est réalisable qu'autant que l'on utilise, comme vaccin, du virus vivant administré, soit à des doses sub-infectantes ou atténué au point que l'infection qui en résulte ne devienne guère apparente.

C'est d'ailleurs une de ces techniques que C. Nicolle a utilisée dans ses premiers essais de vaccination préventive contre le Typhus exanthématique.

Il vaccinait les individus exposés à contracter la maladie en leur injectant à plusieurs reprises des doses infimes de virus contenu dans le cerveau (1) ou dans le sang (2) d'animaux malades. Lebailly, Poirson (3) et Blanc (4) employèrent cette méthode et H. Sparrow (5) fit une étude détaillée sur la vaccination des cobayes par injections répétées de petites doses de matière cérébrale de cobayes infectés de virus exanthématique.

Les expériences faites antérieurement avec du virus tué n'avaient guère donné de résultats démonstratifs.

(1) CH. NICOLLE, H. SPARROW et E. CONSEIL, Vaccination préventive de l'homme contre le Typhus exanthématique par inoculations répétées de petites doses de virus. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, 16, n° 1, 1927, p. 1.

(2) CH. NICOLLE, Essais de vaccination préventive dans le Typhus exanthématique. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, 9, n° 4, p. 241 et *C. R. Acad. sciences*, 363, 1916, p. 38.

(3) CH. LEBAILLY et H. POIRSON, Essais de vaccination contre le Typhus exanthématique. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, 11, n° 1, 1918, p. 31.

(4) G. BLANC et J. CAMINOPETROS, Essais de vaccination préventive contre le Typhus exanthématique. *Arch. Inst. Past. hellénique*, 1, fasc. 2, 1924, p. 149.

(5) H. SPARROW, Recherches expérimentales sur le Typhus exanthématique poursuivies à l'Institut Pasteur de Tunis. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, 16, n° 1, 1927.

Il faut du virus vivant pour obtenir de l'immunité, d'après les uns afin qu'il puisse, par sa multiplication, former une masse antigénique suffisamment importante pour provoquer la réaction indispensable à l'élaboration des substances de défense, et, d'après les autres, afin qu'il réalise une infection bénigne et se conserve dans l'organisme pour y maintenir l'état d'immunité.

Cette opinion a surtout été défendue par Olitsky (1) et ses collaborateurs qui ont régulièrement retrouvé le virus chez les animaux durant tout l'espace de temps où ils se montraient immuns vis-à-vis de la maladie inoculée. Aussi dans nos expériences au sujet de la persistance du virus chez les animaux, nous avons insisté sur le fait que les recherches avaient été effectuées sans soumettre les organes à la cataphorèse. D'après Olitsky, cette opération permettrait seule de dépister le virus dans des organes qui, non soumis à cette méthode d'investigation, en sembleraient dépourvus.

Nous n'avons pas l'intention de discuter la valeur de ces diverses opinions et nous nous contentons de signaler en passant que, sans aucun doute, la masse de virus inoculée a aussi son importance dans les résultats obtenus par la vaccination. En effet, le vaccin de Weigl, inoculé soit chez les animaux soit chez l'homme, leur confère une immunité indiscutable (2). Il faut cependant bien admettre qu'il s'agit d'un vaccin tué, étant donné qu'il est additionné de phénol et qu'il conserve son pouvoir immunisant durant des années. Plusieurs travaux ont été publiés au sujet de la valeur de la méthode de Weigl comme procédé de vaccination. Weigl, Bruynoghe et Jadin ont mis en évidence chez les personnes vaccinées d'après cette technique, des substances d'immunité qui mises en présence du virus atténuent le pouvoir infectant au point qu'il n'en résulte qu'une infection inapparente ou très atténuée. Chez la plupart des animaux ainsi inoculés, on put cependant retrouver le virus dans le sang, ce qui indique que le sérum injecté n'a

(1) OLITSKY et LONG; OLITSKY, RHOADS et LONG, *loco citato*.

(2) WEIGL. *Bull. intern. Acad. polonaise des sciences et des lettres* : classe de Médecine, Cracovie, 1930, p. 1: Rapport des Drs Cajdos et Tchang, au sujet de la vaccination préventive contre le Typhus exanthématique; NICOLLE et H. SPARROW. *Arch. Inst. Past. de Tunis*, 21, 1932; BRUYNOGHE et JADIN, *Arch. intern. Méd. expérimentale*, 8, fasc. 3, 1933.

amené qu'une atténuation de l'infection. On pourrait donc se demander si les substances ainsi élaborées sont virulicides ou simplement pourvues d'un pouvoir atténuant.

C'est ce qui nous a engagés à entreprendre une série de recherches au sujet de l'immunité chez les animaux guéris de leur infection. Comme on peut le voir dans le tableau, nous avons à cet effet réinoculé des animaux guéris depuis peu de semaines et d'autres dont la guérison remontait à plusieurs mois.

Cobaye 20 Z, réinjecté après onze mois.

Cobaye 86, réinjecté après dix mois.

Cobaye 41 Z, réinjecté après douze mois.

Cobaye 142, réinjecté après six mois.

Cobaye 223, réinjecté après deux mois.

Cobaye 233, réinjecté après quarante et un jours.

Cobaye 218, réinjecté après dix-neuf jours.

Cobaye 217, réinjecté après dix-huit jours.

Cobaye 246, réinjecté après dix-huit jours.

Disons d'abord que, chez les uns comme chez les autres, cette réinoculation de virus ne fut suivie ni de réaction thermique ni de réaction scrotale. Les animaux se comportaient comme s'ils n'avaient pas été réinjectés.

Si les propriétés du sérum consistaient simplement en une atténuation, il est vraisemblable que l'on pourrait retrouver le virus dans le sang ou dans le cerveau.

Aussi chez le cobaye 142, 217, 86, nous avons recherché la présence du virus dans le sang que nous injectons à des cobayes neufs. Ces animaux n'ont présenté aucun symptôme d'infection et, réinoculés, ils ont fait une infection exanthématique habituelle.

Nous avons alors recherché, chez plusieurs cobayes réinjectés, la présence du virus dans le cerveau en inoculant la macération de cet organe à des cobayes neufs. Ici encore, nous n'avons observé ni réaction thermique ni réaction scrotale à la suite de ces inoculations et lors de la réinjection avec le virus de passage ces animaux se sont infectés.

De ces expériences, il résulte :

1° Que l'infection entraîne une immunité qui se maintient durant des mois et qui rend ces animaux réfractaires aux inoculations subséquentes ;

2° Que le sérum de ces animaux possède des propriétés indubitablement virulicides et que de ce fait le virus disparaît de leur sang à la suite de la réinoculation.

3° Enfin, que leur cerveau au même titre que leur sang ne se laisse plus réinfecter lors d'une nouvelle injection de virus.

Ce fait mérite d'être pris en considération quand on tient compte qu'au début de l'immunité on peut déceler dans le sérum des substances virulicides, malgré la persistance du virus dans le cerveau. Comme nous l'avons déjà indiqué, le cerveau des cobayes reste, en moyenne, infectant durant quatre semaines et, à partir de la deuxième ou troisième semaine après l'injection, au moment où le sang n'est plus infectant, le sérum est pourvu de substances immunisantes comme l'expérience ci-dessous l'indique :

Cobaye 258. — Injecté le 13 juin 1934 de 0,1 vaginale du cobaye 235 + 2 cent. cubes du sérum du cobaye 241 dont la maladie était terminée depuis trois semaines ; fait de la température du cinquième au neuvième jour ; orchite très passagère le huitième jour.

Cobaye 259. — Injecté le 13 juin 1934 de 0,1 vaginale du cobaye 235 + 2 cent. cubes du sérum du cobaye 243 dont la maladie était terminée depuis quinze jours, fait de la température du troisième au cinquième jour ; pas d'orchite.

Cobaye 257 (contrôle). — Injecté le 13 juin 1934 de 0,1 vaginale de cobaye 235 : fait une température élevée du cinquième au dixième jour ; orchite du sixième au dixième jour.

Chez ces cobayes, il y a donc coexistence de substances d'immunité dans le sang et présence de virus dans le cerveau. Il est vraisemblable que le virus s'y maintient plus ou moins longtemps parce qu'il se soustrait par parasitisme des cellules à l'action des substances virulicides du sérum. Il n'est d'ailleurs pas impossible non plus que le virus, à l'exemple de ce que l'on observe dans certaines maladies parasitaires, notamment dans la fièvre récurrente, acquière une certaine résistance vis-à-vis des substances d'immunité.

A la longue, le virus disparaît du cerveau et, à partir de ce moment, cet organe ne se laisse plus envahir. Il ne nous est donc pas possible de préciser s'il faut mettre cette résistance du cerveau sur le compte de l'immunité du tissu ou sur celui de l'immunité sérique.

V

Enfin, pour terminer nos recherches, nous avons fait quelques essais de chimiothérapie dans le but de déterminer si sous l'action de certaines substances le virus ne pouvait être détruit ou subir tout au moins une atténuation de sa virulence.

A cet effet, nous avons choisi le Solganal B et le Sdt 386 B (Bayer) composé arsenical organique renfermant de l'antimoine sous une nouvelle forme stabilisée.

L'action de la première substance sur diverses infections chroniques est déjà bien connue. L'emploi de la seconde a donné, par voie expérimentale du moins, de très beaux résultats dans le traitement de diverses Trypanosomiasés et surtout dans celui des Bartonelloses.

C'est précisément cette action nocive sur les parasites des globules rouges que constituent les *Bartonella* qui nous ont fait essayer cette substance, vu que beaucoup d'auteurs admettent une certaine analogie entre les *Rickettsia* et les *Bartonella*.

Contrairement à nos prévisions, ces substances n'ont pas influencé suffisamment le virus dans son comportement vis-à-vis des cobayes pour que l'on puisse en tenir compte dans la pratique.

Voici en premier lieu le résumé des expériences réalisées avec le solganal.

Deux jours après l'inoculation du typhus, un premier cobaye fut injecté avec 1/2 cent. cube de la solution de solganal B à 2 p. 100. Dès le lendemain déjà l'influence de ces sels d'or se manifesta par une chute brusque de la température qui entraîna la mort quelques jours plus tard.

Un second cobaye fut injecté après le même délai avec 6 milligrammes de cette substance, et vingt-quatre heures plus tard, il subit une réinjection de la même dose. Malgré l'injection du solganal, le cobaye fit une élévation thermique avec orchite pendant six jours et ce n'est que le neuvième jour que se manifesta l'action hypothermique du solganal. Celle-ci encore une fois entraîna la mort du cobaye deux jours après cette chute de température.

Pour les essais suivants, nous nous sommes alors contentée d'une seule injection de 6 milligrammes afin d'éviter l'influence certainement nocive, réalisée par l'opposition de l'hypothermie provoquée par le solganal et l'élévation de température due au virus du Typhus exanthématique.

Il n'y a plus eu de chute thermique et l'influence du solganal sur le virus en question se résume à une légère atténuation, qui se manifeste, chez l'animal traité, par une température plus tardive, moins longue, et une orchite plus passagère que chez le cobaye inoculé uniquement avec le virus de passage.

L'action du Sdt. 386 B. ne fut pas beaucoup meilleure. Tous les animaux furent traités de la même façon, c'est-à-dire que le cobaye ayant reçu le virus depuis quarante-huit heures fut inoculé deux fois à deux jours de distance par voie sous-cutanée de 5 centigrammes de 386 B. dilué dans 5 cent. cubes d'eau.

Il y eut une modification assez sensible dans l'évolution de la maladie, en ce sens que la durée de la température fut abrégée. L'orchite était certainement moins apparente et quelquefois même elle n'existait pas. Cependant, cette influence n'est pas suffisante, car sur les 10 cobayes que nous avons traités par cette substance, 2 ont fait un typhus sensiblement normal : ce pourcentage d'échec ne peut être négligé, d'autant plus que chez les cobayes injectés avec le sang des animaux qui avaient fait une maladie atténuée le virus reparut avec tous les caractères distinctifs.

Nous ne possédons donc pas encore d'éléments chimiques qui puissent atteindre directement la vitalité ou la virulence de ce virus. La seule manière de lutter efficacement contre ce mal, c'est d'établir de strictes mesures d'hygiène, de détruire les rongeurs et de vacciner les individus exposés, selon la méthode du professeur Weigl.

Conclusions.

1° Le virus du typhus endémique peut infecter d'autres rongeurs que les rats, notamment des souris grises, des souris naines, des campagnols, des lérots et des mulots.

2° Les diverses espèces de rongeurs examinés à ce point de vue se comportent assez différemment les unes des autres et leur réceptivité au virus n'est pas proportionnelle à leur parenté zoologique avec les rats ; les souris naines et les campagnols étant en outre manifestement plus réceptifs que les souris grises, les lérots et les mulots.

Pour autant que les animaux s'y prêtaient, nous avons essayé de déterminer les manifestations qui suivent l'infection expérimentale. Ce n'est que chez les rats, les souris naines et les campagnols que des symptômes imputables à la maladie ont été notés.

3° Le virus peut se développer aussi chez des animaux qui n'appartiennent pas à l'espèce des rongeurs et nous avons infecté notamment des hérissons et des pigeons.

4° En dehors de l'infection opérée dans la nature par l'intermédiaire des ectoparasites, ces animaux peuvent contracter également la maladie par voie digestive en ingérant leurs ectoparasites infectés ou en dévorant les cadavres d'animaux morts de Typhus exanthématique.

Les infections opérées par cette voie sont, chez la plupart des animaux, moins graves que celles qui suivent l'inoculation par d'autres voies. Il s'en suit que ces animaux ainsi infectés peuvent propager la maladie sur une échelle plus étendue dans l'espace et dans le temps, car le virus, du fait de son passage par les voies digestives, ne subit aucune atténuation de sa virulence. En outre, ces animaux, étant donnée l'absence de troubles, ne sont nullement entravés dans leur activité, ni limités dans leurs déplacements.

5° Sans dénier aux *Rickettsia* la signification étiologique que les auteurs leur attribuent, leur recherche ne constitue toutefois pas un critère de valeur absolue pour dépister la présence éventuelle du virus chez les animaux. En effet, chez nombre de rongeurs sûrement infectés, les méthodes de coloration utilisées pour leur recherche ne permirent pas de les mettre en évidence.

D'ailleurs, les produits pathologiques filtrés et, de ce fait, débarrassés de leurs *Rickettsia* conservent leur pouvoir infectant.

6° Il en est de même de l'épreuve Weil-Félix, laquelle est

positive chez certains (rats, souris naines, lérots, lapins, hérissons), et négative chez d'autres animaux (souris, campagnols, mulots et pigeons).

7° Il nous a été impossible de cultiver le virus du Typhus exanthématique d'après la technique indiquée par Silber et Dossière; d'ailleurs, comme nous l'avons fait remarquer, leurs résultats sont très discutables et peu démonstratifs.

8° L'immunité qui suit l'infection typhique met les animaux à l'abri de nouvelles infections et cela durant une assez longue période. Le virus qui leur est réinoculé est tué par les substances virulicides du sérum et ne se retrouve par conséquent ni dans le sang ni dans le cerveau. Il est intéressant de signaler qu'au début de l'immunité, le sérum est pourvu de substances virulicides à un moment où, dans la généralité des cas, le cerveau héberge encore le virus.

A la longue, toutefois, le virus y disparaît à son tour sans que l'immunité en soit altérée.

Comme nous l'avons indiqué, nos recherches ont été effectuées sans soumettre les organes à la cataphorèse, opération qui, d'après Olitsky et ses collaborateurs, permettrait peut-être d'y dépister encore le virus.

9° Etant donnée la ressemblance des *Rickettsia* et des *Bartonella*, nous avons examiné l'action de deux substances (Solganal B. et S. d. t. 386 B. « Bayer ») très actives à l'égard de ces derniers parasites. En fait, ces substances n'ont guère influencé les infections typhiques. Leur action s'est réduite à une certaine atténuation des manifestations consécutives à l'infection expérimentale, sans modifier définitivement le pouvoir pathogène du virus.

SUR LES PIGMENTS CAROTÉNOÏDES DE DEUX BACTÉRIES ACIDO-RÉSISTANTES

par ERWIN CHARGAFF et EDGAR LEDERER.

(Institut Pasteur.

Laboratoires de recherches sur la tuberculose
et Institut de Biologie physico-chimique.)

Dans une communication précédente [1], l'un de nous a décrit les caroténoïdes de plusieurs bactéries. La seule bactérie acido-résistante étudiée dans ce mémoire est le bacille de la fièvre (Mycobacterium phlei). Il contient les carotènes β et γ et une xanthophylle, probablement la lutéine. L'étude des lipochromes des bactéries acido-résistantes ayant une grande teneur en lipides présente un intérêt spécial par suite de la similitude de ces germes avec le bacille de la tuberculose. De telles recherches conduiront peut-être à une méthode permettant de distinguer à l'aide de la spectroscopie les différents bacilles acido-résistants par leurs pigments caractéristiques.

Dans le présent mémoire, nous nous occuperons des lipochromes du *Bacille Lombardo Pellegrini* et du *Bacille de Grassberger* [2].

C'est le bouillon glyciné qui nous a donné les cultures les plus colorées; après que les bactéries s'étaient bien développées à une température de 37°, il a fallu les exposer à la lumière du jour à température ordinaire pour qu'elles se colorent bien.

Pour la séparation des pigments, nous avons procédé selon les méthodes habituelles du partage, de l'adsorption et de l'étude spectroscopique [3]. Nous ne sommes pas arrivés à avoir des préparations cristallisées, car la présence de substances grasses et cireuses en grande quantité et la difficulté d'obtenir des quantités suffisantes de matériel rendent la purification des pigments étudiés très difficile.

Le *Bacille Lombardo Pellegrini* contient comme hydrocar-

bures les *carotènes* β et γ ; ce dernier avait déjà été trouvé dans le bacille de la fièvre. Il semble que le *Bacille Lombardo Pellegrini* contienne une seule *xanthophylle* que nous n'avons pas pu identifier (bandes d'absorption à 491 et 458 $m\mu$ dans le méthanol); il s'agit probablement d'un pigment non encore décrit. Ce caroténoïde est fortement adsorbé sur du carbonate de calcium et assez difficilement soluble dans l'éther de pétrole; ceci nous fait penser qu'il s'agit d'une *xanthophylle* riche en oxygène.

Le *Bacille de Grassberger* contient trois hydrocarbures : les *carotènes* β et γ et le *lycopène*; rappelons les rapports étroits qui existent entre les formules de ces trois corps : le carotène γ est un lycopène cyclisé à une extrémité de la chaîne; le carotène β est un lycopène cyclisé aux deux extrémités de la chaîne. La présence de lycopène dans les bactéries a déjà été observée par V. Reader [4], ainsi que par F. M. Stone et C. B. Coulter [5]. Dans le bacille de Grassberger, il n'y a qu'une seule *xanthophylle*, qui rappelle par quelques-unes de ses propriétés (adsorbabilité et solubilité) la *xanthophylle* du *Bacille Lombardo Pellegrini*; elle est cependant plus foncée et montre deux bandes d'absorption situées à 506 et 477 $m\mu$ (dans le méthanol). Comme cette *xanthophylle* ne donne pas de coloration bleue avec l'acide chlorhydrique concentré, elle n'est pas identique à la capsanthine qui a presque le même spectre d'absorption.

Les *xanthophylles* des deux bactéries étudiées sont en partie estérifiées.

Soulignons encore qu'on a trouvé dans toutes les bactéries acido-résistantes le *carotène* γ , qui est assez rare chez les plantes supérieures. Les *xanthophylles* des deux bacilles étudiés ici, qui sont apparemment des pigments nouveaux, constituent des traits caractéristiques de ces organismes.

Partie expérimentale.

1° BACILLE LOMBARDO PELLEGRINI.

Nous avons cultivé les bactéries sur du bouillon glycérimé, d'abord pendant une semaine à 37° à l'abri de la lumière, puis

pendant une semaine à la température ordinaire et à la lumière diffuse. Après avoir filtré et lavé la masse rouge, nous l'avons traitée par de l'acétone à 70 p. 100; le solvant dilué n'extrait pas de pigment. Nous avons centrifugé et traité ensuite les bactéries quatre fois par de l'acétone pur. Le premier extrait est rouge-orange, le dernier faiblement jaune orangé et les bactéries sont devenues presque incolores. Nous avons réuni les liquides et ajouté de l'éther de pétrole et de l'eau. En agitant plusieurs fois avec de l'éther de pétrole, nous avons pu faire passer le pigment tout entier dans ce solvant.

Nous avons ensuite agité la solution de caroténoïdes dans l'éther de pétrole avec du méthanol à 90 p. 100 : la couche inférieure alcoolique, ayant dissous la fraction des *xanthophylles libres*, s'est colorée en orange. En saponifiant ensuite la solution d'éther de pétrole avec de la potasse alcoolique, nous avons obtenu : une fraction de xanthophylles provenant d'esters de *xanthophylles* qui passe après saponification dans le méthanol à 90 p. 100; une fraction d'*hydrocarbures*, insoluble dans le méthanol, qui reste dans l'éther de pétrole.

I. HYDROCARBURES. — Nous avons filtré la solution d'hydrocarbures dans l'éther de pétrole à travers une colonne d'oxyde d'aluminium (Merck); il s'est formé une zone violette sur la partie supérieure de la colonne (fraction 1) et au-dessous de celle-ci une zone orangée (fraction 2). Nous avons séparé mécaniquement les deux fractions et en avons élué le pigment adsorbé par de l'éther de pétrole contenant 1 p. 100 de méthanol. La comparaison des spectres d'absorption des deux fractions avec ceux des hydrocarbures connus nous montre que la fraction 1 est du *carotène* γ et la fraction 2 du *carotène* β .

Spectres d'absorption dans l'éther de pétrole :

Fraction 1	491 m μ	461 m μ
Carotène γ	495 m μ	462 m μ
Fraction 2	488 m μ	457 m μ
Carotène β	487 m μ	456 m μ

Nous n'avons pas réussi à obtenir ces carotènes à l'état cristallisé à cause de la grande quantité de matières lipidiques insaponifiables qui les accompagnait, même dans les éluations.

II. XANTHOPHYLLES. — Le rapport entre les quantités de xanthophylles libres et de xanthophylles estérifiées n'est pas constant; dans une culture, nous avons trouvé la plupart des xanthophylles à l'état libre, dans une autre à l'état estérifié.

La purification des xanthophylles est rendue très difficile par la présence de certaines matières grasses dont nous n'avons pas pu les débarrasser.

Quand on ajoute de l'éther de pétrole et de l'eau à une solution de xanthophylles dans l'alcool méthylique, l'éther de pétrole reste incolore et le pigment précipite en flocons rosâtres qui se rassemblent entre les deux couches de solvants.

Nous avons dissous ce précipité dans le benzène, ajouté de l'éther de pétrole et filtré sur une colonne de carbonate de calcium; le pigment tout entier est adsorbé sur la partie supérieure de la colonne et forme une zone orangée; après élution avec du méthanol et addition d'éther de pétrole et d'eau, le pigment précipite de nouveau en flocons rosâtres comme ceux déjà mentionnés. Le spectre d'absorption de ce précipité dissous dans le méthanol, montrait des bandes d'absorption à 491 et 458 m μ . Le pigment du précipité est insoluble dans le sulfure de carbone et dans l'éther de pétrole, mais cette insolubilité semble être due à la présence des matières qui accompagnent le pigment.

La fraction des esters de xanthophylles se comporte après saponification comme les xanthophylles libres.

2° BACILLE DE GRASSBERGER.

Les bacilles cultivés de la même manière que le Bacille Lombardo Pellegrini ont été séparés du bouillon de culture par filtrage et traités ensuite par de l'acétone à 70 p. 100; le pigment ne passe pas encore en solution. Nous l'avons extrait des bactéries en les traitant deux fois par de l'acétone, deux fois par un mélange de méthanol et d'essence de pétrole et trois fois par l'essence de pétrole seule. Les solvants se colorent en rouge-orange. De là on fait passer le colorant dans l'éther de pétrole en ajoutant de l'eau. Une partie du pigment précipite sous forme de flocons rouges contenant une partie de la xanthophylle et des traces des hydrocarbures décrits plus loin.

Nous avons lavé l'éther de pétrole avec de l'eau et agité ensuite avec du méthanol à 90 p. 100 qui dissout les *xanthophylles* libres.

Après saponification de la solution d'éther de pétrole par de la potasse alcoolique et addition d'eau, nous avons obtenu une solution alcoolique alcaline contenant les *xanthophylles* provenant d'esters de *xanthophylles* et une solution d'éther de pétrole contenant les *hydrocarbures*.

I. HYDROCARBURES. — Nous avons séché par le sulfate de sodium, l'éther de pétrole contenant les hydrocarbures, et l'avons filtré à travers une colonne d'oxyde d'aluminium. Il s'est formé deux zones violettes dans la partie supérieure de la colonne; après quelque temps le filtrat a commencé à se colorer en jaune. Les spectres d'absorption des éluations des fractions adsorbées montrent qu'il s'agit de *lycopène* et de *carotène*; le filtrat jaune contient du *carotène* β .

Spectres d'absorption dans l'éther de pétrole :

Fraction 1	504 m μ	474 m μ
Lycopène.	506 m μ	474 m μ
Fraction 2	494 m μ	461 m μ
Carotène γ	495 m μ	462 m μ
Filtrat	488 m μ	457 m μ
Carotène β	487 m μ	456 m μ

II. XANTHOPHYLLE. — Les fractions des *xanthophylles* libres et des esters saponifiés qui montraient le même spectre d'absorption (506, 477 m μ dans le méthanol) ont été réunies et additionnées d'eau et d'éther de pétrole. La plus grande partie du pigment précipite alors sous forme de flocons roses qui se rassemblent entre les deux couches de solvants. Le précipité fut ensuite filtré, dissous dans le benzène tiède, puis filtré sur une colonne de carbonate de calcium. La *xanthophylle* est adsorbée tout à fait en haut de la colonne sous forme d'une zone rouge; après élution du caroténoïde par le méthanol, son spectre d'absorption était inchangé, de même ses solubilités : par addition d'eau à l'élution alcoolique, le pigment précipitait sous forme de flocons roses, insolubles dans le sulfure de carbone; cette insolubilité est due à la présence d'une matière

lipidique accompagnant le pigment et ressemblant à celle observée chez le Bacille Lombardo-Pellegrini.

On ne peut que difficilement extraire la xanthophylle d'une solution alcaline obtenue par saponification de ses esters; ceci indique des propriétés légèrement acides.

La xanthophylle du Bacille de Grassberger ressemble par son spectre d'absorption à la capsanthine, mais contrairement à celle-ci, elle ne donne pas de réaction bleue avec l'acide chlorhydrique concentré; en outre, les solutions de xanthophylle dans l'alcool et dans l'éther de pétrole ne présentent pas la différence de couleur qui caractérise la capsanthine.

Nous remercions la Rockefeller Foundation (E. C.) et la Ella Sachs Plotz Foundation (E. L.) d'avoir bien voulu nous aider dans ces recherches.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. CHARGAFF. Ces *Annales*, 52, 1934, p. 415. Ajoutons à la liste des travaux sur les caroténoïdes des bactéries, discutés dans ce mémoire, une publication de R. Lévy, G. Teissier et R. Wurmser. *Ann. physiol. et physico-chim. biol.*, 1, 1925, p. 298; dans ce travail les auteurs ont isolé un pigment rouge très foncé, à partir de *Chromatium okenii*; citons encore un mémoire de C. A. Baumann, H. Steenbock, M. A. Ingraham et E. B. Fred, *Journ. biol. Chem.*, 103, 1933, p. 339, dans lequel les auteurs étudient la formation de carotène et de vitamine A dans différents microorganismes.
- [2] G. SANDOR et G. ROUGEBIEF. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 15, 1933, p. 415, ont étudié l'influence du pH de la solution de culture sur la formation du pigment du Bacille de Grassberger.
- [3] Pour les détails sur les caroténoïdes en question et sur les méthodes de séparation employées dans ce mémoire, voir E. Lederer. *Les caroténoïdes des Plantes*, Hermann et C^{ie}, Paris, 1934.
- [4] V. READER. *Biochem. Journ.*, 19, 1923, p. 1039.
- [5] F. M. STONE et C. B. COULTER. *Journ. gen. Physiol.*, 15, 1932, p. 629.

Le Gérant : G. MASSON.